

# EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES  
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT  
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE  
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:

R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE  
Lausanne Bern Zürich Genève-Pasadena

Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

VERLAG BIRKHÄUSER AG · BASEL 10  
SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

UNIVERSITY OF HAWAII  
LIBRARY  
JAN 5 '55

## SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

E. VON SKRAMLIK: Die Regelung der Strömungsrichtung des Blutes . . . . . 441

### *Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports*

- D. G. O'SULLIVAN: A Transformation of Solutions of Diffusion Equations Valid for Certain Initial and Boundary Conditions . . . . . 455
- J. A. LUETSCHER, Jr., R. NEHER, and A. WETTSTEIN: Isolation of Crystalline Aldosterone from the Urine of a Nephrotic Patient . . . . . 456
- J. KOLLONITSCH, A. HAJÓS, V. GABOR und M. KRAUT: Neue Synthesen des Chloramphenicols und deren stereochemischen Beziehungen . . . . . 458
- M. PÖHM: Über das Vorkommen von Ergotamin in spanischem Mutterkorn . . . . . 460
- MARIA A. RUDZINSKA and K. R. PORTER: Electron Microscope of Intact Tentacles and Disc in *Tokophrya infusionum* . . . . . 460
- G. GLIMSTEDT, S. LAGERSTEDT, and K. S. LUDWIG: The Visualization of the Granulated Mitochondrial Inner Body through Treatment of Isolated Mitochondria with Xylene . . . . . 462
- R. MATTHEY: Un cas nouveau de chromosomes sexuels multiples dans le genre *Gerbillus* (*Rodentia-Muridae-Gerbillinae*) . . . . . 464
- K. R. S. ASCHER and C. KOCHER: Enhanced Susceptibility of a Highly Resistant Strain of Houseflies to Ingestion of Potassium Bromide . . . . . 465
- J. P. HOET et P. A. OSINSKI: Analyses chromatographiques des corticoïdes extraits du liquide amniotique d'une femme diabétique . . . . . 467
- A. L. WALDO and R. E. ZIPF: The Diphenylamine Test on Leukemic Sera . . . . . 468
- L. PEROSA and L. BINI: Alkali-Resistant Cooley's Anemia Haemoglobin is Different from Alkali-Resistant Fetal Haemoglobin . . . . . 469
- F. ABRIGNANI and V. MUTOLO: *In vitro* Inhibition of Catalase by Ovomucoid . . . . . 470
- V. ERSPAMER: Observations on the Metabolism of Endogenous 5-Hydroxytryptamine (Enteramine) in the Rat . . . . . 471
- H. KONZETT and E. ROTHLIN: Zur Wirkung von Narkotin auf den Hustenreflex und auf die Bronchialmuskulatur . . . . . 472
- C. G. BERNHARD and E. BOHM: On the Effects of Xylocain on the Central Nervous System with Special Reference to its Influence on Epileptic Phenomena . . . . . 474

### *Informations - Informationen - Informazioni - Notes*

Studiorum progressus: E. WENKERT: The Structure of Tazettine . . . . . 476



# BBT

## KRAUSS

### Präzisionsinstrumente

Grosses Universal-Mikroskop  
Monokulare und binokulare  
biologische Mikroskope  
Phasenkontrast-Mikroskop  
Interferenz-Mikroskop  
Binokulares stereoskopisches  
Mikroskop  
Mikrophotographische Apparate

#### Andere Erzeugnisse

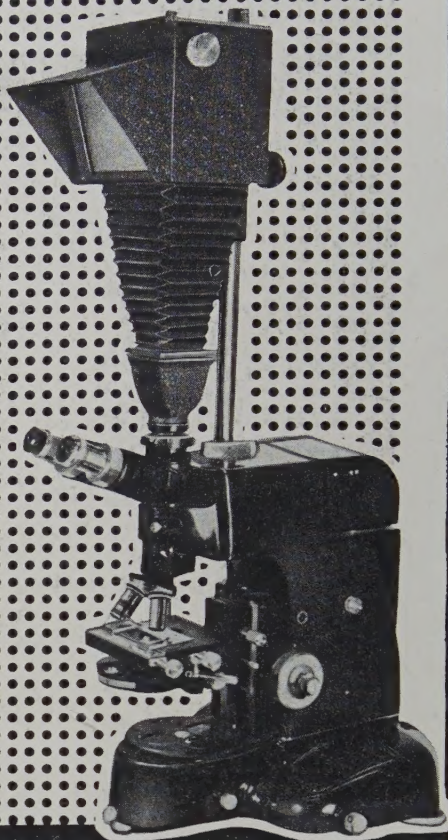
Prismengläser - Lupen -  
Operationslampen - Kolposkop

### Instruments de précision

Grand microscope universel  
Microscopes biologiques  
(Monoculaire et Binoculaire)  
Microscope à  
« contrast de phase »  
Microscope interférentiel  
Microscope binoculaire  
stéréoscopique  
Dispositif binoculaire de  
microphotographie

#### Autres fabrications :

Jumelles - loupes de précision -  
scialytique - colposcope



ANCIENS  
ÉTABLISSEMENTS

## BARBIER, BENARD & TURENNE

82, RUE CURIAL PARIS-19'

### Verzeichnis der Inserenten - Liste des annonceurs - List of Advertisers - *Experientia* X/11

Barbier, Benard & Turenne, Paris  
Ciba AG., Basel  
Ganz & Co., Zürich  
J. R. Geigy AG., Basel  
E. Mettler, Zürich

Salvis AG., Luzern  
Sandoz AG., Basel  
Trüb, Täuber, Zürich  
Verlag Birkhäuser AG., Basel  
Verlag Benno Schwabe & Cie., Basel

### Die *EXPERIENTIA* kann in folgenden Ländern durch die Post abonniert werden:

Des abonnements pour *EXPERIENTIA* peuvent être commandés près des bureaux de postes des pays suivants :

|             |                    |          |          |          |
|-------------|--------------------|----------|----------|----------|
| Italien     | Belgien, Luxemburg | Dänemark | Schweden | Portugal |
| Deutschland | Holland            | Norwegen | Finnland | Marokko  |

L'*EXPERIENTIA* paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an 36 francs pour la Suisse; pour l'étranger 46 francs. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die *EXPERIENTIA* erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 36.-, im Ausland sFr. 46.-.

Insertionspreise:  $\frac{1}{4}$  Seite Fr. 220.-,  $\frac{1}{2}$  Seite Fr. 132.-,  $\frac{1}{4}$  Seite Fr. 77.-. Inseratenannahme durch den Verlag.

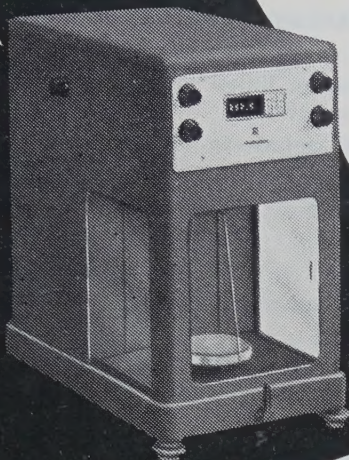
*EXPERIENTIA* esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 36.- per la Svizzera; all'estero fr. 46.-. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

*EXPERIENTIA* is published on the 15<sup>th</sup> of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price by annual subscription by inland mail is fr. 36.-; other countries fr. 46.-. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising:  $\frac{1}{4}$  page fr. 220.-,  $\frac{1}{2}$  page fr. 132.-,  $\frac{1}{4}$  page fr. 77.-. Advertisements should be sent to the publishers.



*mit der Zeit gehen*



heisst die Devise des fortschrittlichen Chemikers. Er bevorzugt deshalb die nach den modernsten Grundsätzen konstruierte METTLER Analysenwaage. Das Prinzip der konstanten Belastung gewährleistet maximale Genauigkeit. Verlangen Sie bitte eine unverbindliche Demonstration.



**Mettler**  
ANALYSENWAAGE

E. METTLER ZÜRICH 1 SCHWEIZ PELIKANSTR. 19

TEL. (051) 25 25 70

Neuerscheinung Verlag Birkhäuser

F. DUBS

## Aerodynamik der reinen Unterschallströmung

225 Seiten mit 178 Figuren  
Leinen Fr. 22.- (DM 22.-) 1954

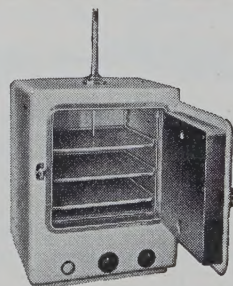
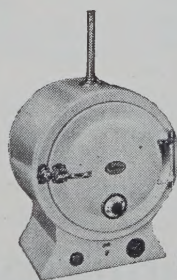
Das Buch gibt jedem am Flugwesen Interessierten eine allgemein verständliche, jedoch wissenschaftlich einwandfreie Einführung in die Unterschall-Aerodynamik.

Aus dem Inhalt:

Die Atmosphäre – Strömungsgesetze – Strömungsformen – Strömungsbilder – Die Grenzschicht – Mittel zur Verhinderung der Ablösung – Unterschallwindkanäle – Der Magnuseffekt – Der Tragflügel – Profilform und Polare – Der Restwiderstand – Der Interferenzwiderstand – Flugbremsen – Die Gesamtpolare – Schrifttum, Namen- und Sachverzeichnis.

Bitte fordern Sie Prospekte an!  
Zu beziehen durch jede Buchhandlung

**Elektrische Wärmegeräte  
für Laboratorien**



**Elektrische Trocken-, Brut-  
und Sterilisierschränke**

**Salvis**

**SALVIS AG. Luzern-Emmenbrücke**  
Fabrik elektrischer Apparate



# NEUES **ZEISS-WINKEL** STANDARD-MIKROSKOP GF 625

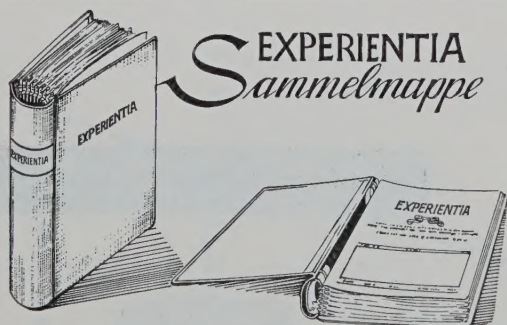
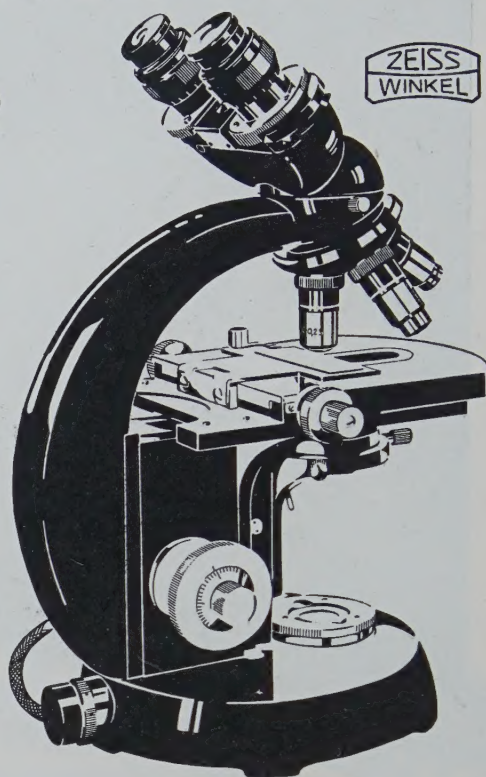
Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie
- Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung
- Grosser Kreuztisch mit koaxial gelagerten, links- und rechtsseitig angebrachten Triebknöpfen
- Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive
- Vergrößerungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)
- Schlittenrevolver für fünf Objektive
- Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor
- Neue Achromate und Neofluare mit dezimal-geometrischer Abstufung der Vergrößerungen

Auskunft und Vorführung durch die  
Generalvertretung für die Schweiz:

Verlangen Sie bitte  
Prospekt  
Nr. ZW/502/E

**GANZ & Co**  
BAHNHOFSTR. 40  
TEL(051) 23 97 73 *Zürich*



Preis, in Kunstleder gebunden: Fr. 6.75

verlorengehen und vor dem Einbinden nachbezogen werden müssen. Die Sammelmappe ist so massiv konstruiert, dass sie ihren Dienst auf Jahre hinaus leisten wird.

Diese Mappe hat den Zweck, die Hefte des laufenden Jahrganges zusammenzuhalten, bevor der komplette Jahrgang gebunden werden kann. Die einzelnen Hefte können mittels einer neuartigen, patentierten Haltevorrichtung in die Mappe eingeklebt und im Bedarfsfall wieder herausgelöst werden. Mit dieser geschmackvoll in Kunstleder gebundenen Mappe soll dem Übelstand abgeholfen werden, daß einzelne Hefte im Laufe des Jahres

## BESTELLSCHEIN

An den  
VERLAG BIRKHÄUSER AG.  
BASEL 10 (Schweiz)

Ich bestelle ... Sammelmappe(n) zum Preise von Fr. 6.75

Name: \_\_\_\_\_

Vorname: \_\_\_\_\_

Ort: \_\_\_\_\_

Strasse: \_\_\_\_\_

Bitte in Blockschrift schreiben

**Elektronenmikroskope**  
**Mikrotome**  
**Elektronendiffraktographen**  
**Hochspannungssoszillographen**



**Trüb, Täuber · Zürich**



## Die Regelung der Strömungsrichtung des Blutes

Von E. VON SKRAMLIK<sup>1</sup>, Berlin

### I. Einleitung

Wenn man die Einrichtungen bzw. Vorgänge berücksichtigt, wie sie im Kreislaufsystem des Menschen und der Säugetiere gegeben sind<sup>2</sup>, so wird man leicht zu der Vorstellung verführt, dass der Umlauf des Blutes durch Eingreifen des Herzens ausschliesslich in *einer* Richtung vor sich gehen kann. Ist doch diese durch den Einbau von Klappen in das Herz und in die Venen weitgehend festgelegt! Es kann sich infolgedessen das Blut nur in jener «Achtertour» bewegen, die dadurch charakterisiert ist, dass es aus dem linken Herzen über die Körperkapillaren nach dem rechten getrieben wird, während es von diesem über die Lungenkapillaren nach der Ausgangsstelle zurückkehrt. Diese Strömungsrichtung erscheint in einem gewissen Umfange auch erforderlich, da ja die arteriellen Gefässe viel kräftiger gebaut sind als die venösen. Haben ja doch die ersteren den Anprall des Blutes auszuhalten, das mit beträchtlicher Kraft aus den Kammern hinausgeschleudert wird. Demgemäss müssen sie über eine stärkere Wandung verfügen als die venösen. Auch würden die zartwandigen Vorhöfe niemals den Druck aufbringen, der notwendig wäre, um das Blut in der entgegengesetzten Richtung, sei es über die Lungenkapillaren nach dem rechten Herzen, sei es über die Körperkapillaren nach der linken Herzabteilung zu treiben. Gewiss käme eine Erleichterung insofern in Betracht, als der Widerstand in dem angeschlossenen venösen Gefäßsystem geringer ist als in dem arteriellen. Dadurch würde aber nur eine zeitweise Erleichterung eintreten, denn auf die Venen mit einem geringen folgen die Kapillaren mit einem erheblich grösseren Widerstand. An diese schliessen sich aber die Arterien an, die ja im allgemeinen dem Durchgang des Blutes einen nicht unbeträchtlichen Widerstand entgegensetzen. Es ist eben unser Kreislaufsystem mit seinem Motor nicht etwa symmetrisch in bezug auf die Kapillaren gestaltet. Eine weniger wichtige Rolle käme der Arterialisierung des Blutes in den Lungen zu.

Denn schliesslich dürfte es nur einen zeitlichen Unterschied ausmachen, ob die Körperkapillaren das mit O<sub>2</sub> gesättigte, mit CO<sub>2</sub> weniger beladene Blut über die Arterien oder über die Venen erhalten; der Hauptverbrauch des einen und die Hauptbildung des anderen Gases sind ja doch im wesentlichen auf das Eingreifen der Zellen in der Umgebung der Kapillaren zurückzuführen.

Im Zusammenhang damit erhebt sich die Frage, wie alle Einrichtungen beschaffen sind bzw. sein müssen, damit wirklich in unserem Kreislaufsystem die Strömung des Blutes in *einer* und bloss in einer Richtung gewährleistet ist. Schliesslich lehrt es schon die Tatsache der Herzklappenfehler, dass zumindest auf kurze Strecken ein Rückstrom von Blut nicht ausgeschlossen ist. Dazu steht von seiten des Herzmuskels einer Rückbeförderung von Blut nicht viel im Wege. Wir wissen es ja aus zahlreichen Versuchen, dass die Erregungs- und Kontraktionswelle über das Wirbeltier-, auch das Menschenherz, sowohl in der normalen als auch in der entgegengesetzten Richtung fortschreiten kann, wenn auch nicht gleich sicher und schnell. Die Leitungsrichtung von den venösen nach den arteriellen Gefässen (entsprechend der anatomischen Bezeichnung) ist ja zweifellos bevorzugt.

Wollen wir die gestellte Frage beantworten, so müssen wir etwas weiter ausgreifen und uns über jene Einrichtungen unterrichten, welche in den verschiedenartigsten gestalteten Kreislaufsystemen die Beförderung von Blut in einer Richtung gewährleisten. Im wesentlichen findet eine Strömung des Blutes in Röhren statt, die von der Blutflüssigkeit in beiden Richtungen passiert werden können. Wie kommt es nun, dass, wenn auch unter Umständen nur für eine abgegrenzte Zeit, eine Richtung bei der Strömung eingehalten wird, und welche Nachteile würde es für den betreffenden Organismus bringen, wenn dies nicht der Fall wäre?

Auf diesem Gebiete können eigentlich nur die Lehren der *vergleichenden Physiologie* zu einer Beantwortung herangezogen werden. Demgemäss habe ich es mir zur Aufgabe gemacht, von diesem Standpunkt aus zusammenfassend über derartige Einrichtungen zu berichten. Im Kreislaufsystem des Menschen und der Säugetiere, auch der Vögel, liegen schon recht verwickelte Verhältnisse vor, die nicht oder nicht ohne weiteres zu durchschauen und einer Analyse zugänglich sind. Dann kann es aber leicht geschehen, dass eine

<sup>1</sup> Anschrift: Berlin NW 7, Schumannstrasse 20/21.

<sup>2</sup> R. TIGERSTEDT, *Die Physiologie des Kreislaufs*, I. 31 ff. (W. de Gruyter, Berlin und Leipzig 1921). – E. TH. BRÜCKE, *Die Bewegung der Körpersäfte*, in «Wintersteins Handbuch der vergleichenden Physiologie», Bd. I, 1. Hälfte (G. Fischer, Jena 1925), 827 ff. – F. MORITZ, *Physiologie und Pathologie der Herzklappen*, in «Bethes Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie» 7, 1 (J. Springer, Berlin 1926), S. 158 ff. – E. V. SKRAMLIK, *Herzmuskel und Extrareize* (G. Fischer, Jena 1932).



Einrichtung übersehen wird, die für die Sicherung der Strömungsrichtung von Bedeutung ist, die indessen in den vorhin genannten Kreislaufsystemen nicht weiter auffällt. Sie drängt sich erst auf, wenn wir bei anderen Organismen sehen, dass gerade sie für die Erhaltung der Blutströmung in einer Richtung den Ausschlag gibt.

## II. Die Einrichtungen, die auf die Einhaltung einer bestimmten Strömungsrichtung hinausarbeiten

Vor allem muss hier darauf hingewiesen werden, dass die Regelung der Strömungsrichtung des Blutes in einem Kreislaufsystem auf recht verschiedenartigen Faktoren beruht. Man kann diese dem Wesen nach hauptsächlich in *aktive* und *passive* einteilen. Freilich stossen wir, wenn auch nicht ausnahmslos, so doch in der überwiegenden Anzahl der Fälle, auf Kombinationen dieser beiden Faktoren. Demgemäss empfiehlt es sich bei der Behandlung der gestellten Aufgabe, diese drei Möglichkeiten für die Regelung der Strömungsrichtung gesondert zu besprechen.

### A. Aktive Mechanismen

Unter einem aktiven Mechanismus haben wir das Eingreifen von Muskeln zu verstehen, die sich in einem bestimmten Augenblick und in einer festgelegten Weise zusammenziehen. Da es sich um die Beförderung einer Flüssigkeit handelt, so kommt nur ein Hohlmuskel in Frage, der sich aus äusseren oder aber aus inneren Gründen zusammenzieht. Dieser Hohlmuskel entspricht einer Röhre, wobei dieses Rohr einfach gestaltet, aber auch recht verwickelt gebaut sein kann. Im *ersten* Falle sprechen wir von einem kontraktilem Gefäss, das die Urform eines Motors darstellt<sup>1</sup>, im *zweiten* Falle von einem Herzen, besonders dann, wenn weite Abteilungen eingeschaltet sind. Zieht sich die Wand dieses Hohlgebildes zusammen, so wird auf den Flüssigkeitsinhalt ein Druck ausgeübt, der sich nach dem *Pascalschen Prinzip* nach allen Richtungen gleichmässig fortpflanzt. Ist aber erst die Flüssigkeit in dem Hohlmuskel unter einen Druck gesetzt, so kann sie zur Strömung gebracht werden. Es setzt dies allerdings voraus, dass an diesen Hohlmuskel Röhren angeschlossen sind, in denen ein Flüssigkeitsstrom vor sich gehen kann.

Wollen wir die Bedeutung dieser Tatsachen erkennen, so ist es ratsam, auf einer sehr tiefen Stufe der Entwicklung des tierischen Lebens anzufangen, auf der der Bedarf der Zelle nach Nahrung noch in einer sehr einfachen Weise gedeckt werden kann. Es empfiehlt sich sogar, darüber hinauszugehen und sich ein Kreislaufsystem zurechtzudenken, das nur aus einem ringförmig angeordneten Gefäss besteht, das mit Blut-

flüssigkeit gefüllt ist und sich kontrahieren kann. In Wirklichkeit kennen wir kein derartig primitiv gestaltetes Kreislaufsystem; es würde auch seinen Zweck, nämlich die Versorgung aller Körperzellen mit Nahrung, nicht erfüllen. Nur dort ist eine richtige Zellernährung durchführbar, wo eine Aufteilung der Gefässe bis zu den Kapillaren statthat, wo also ein richtig ausgebildetes Berieselungssystem vorliegt.

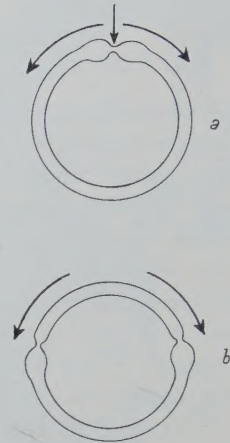


Abb. 1. Das Hinweggleiten einer Erregungs- und Kontraktionswelle in beiden Richtungen über einen Gefässring bei Reizung einer Stelle. a Einsetzen; b Fortschreiten der beiden Wellen.

Wie kann nun in einem solchen gedachten System ein Umlauf des Blutes in einer bestimmten Richtung vor sich gehen? Das ins Auge gefasste Rohr soll völlig gleichartig und symmetrisch gebaut sein und in seiner Wandung an allen Stellen gleichmässig Muskelsubstanz aufweisen, die sowohl einer Zusammenziehung als auch einer Erschlaffung fähig ist. Das letztere ist nicht etwa selbstverständlich. Man ist gewohnt, die Zusammenziehung als einen aktiven Vorgang anzusehen, die Erschlaffung aber als einen passiven. Auch denkt man immer daran, dass sich an eine Zusammenziehung sozusagen automatisch eine Erschlaffung anschliesst. In Wirklichkeit liegen die Dinge nicht immer so. Vor allem ist darauf hinzuweisen, dass vorzugsweise bei den Herzen der Wirbellosen eine Zusammenziehung sehr leicht erfolgt, dass aber im Anschluss daran das Gefäss oder das Herz nicht von selbst erschlafft, dass es vielmehr erst dazu gebracht werden muss, weil es sonst zusammengezogen bleibt. Man spricht in diesem Falle von einer passiv herbeigeführten Dehnung, die ihrerseits für die nächst folgende Zusammenziehung von grösster Bedeutung ist. Anders liegen die Dinge bei den Herzen der Wirbeltiere. Hier folgt der Zusammenziehung sozusagen automatisch die Erschlaffung nach. Man kann demgemäss im ersten Falle von einer *passiven*, im zweiten Falle von einer *aktiven Diastole* sprechen. Auf diese Tatsache sei mit Nachdruck hingewiesen, weil man sonst leicht dem Eindruck verfällt, dass unter allen Umständen die Zusammenziehung das aktive Geschehen darstellt, während die Erschlaffung etwas

<sup>1</sup> E. V. SKRAMLIK, *Vom pulsierenden Gefässrohr zum Herzautomatiezentrum*, C. r. XII<sup>e</sup> Congr. intern. Zool., Lisbonne 1935, S. 222 (1936).



Passives ist, das vorzugsweise durch den Einstrom von Blut herbeigeführt wird<sup>1</sup>.

Wenn nun an einer Stelle eines solchen Schlauches (siehe Abb. 1) die Kontraktionswelle einsetzt, so wird sie sich nach den beiden möglichen Richtungen (entsprechend beiden Ausgängen bei einem Rohr) ausbreiten und damit das Blut vor sich hertreiben. Dieser Vorgang hängt nun nicht allein mit der Zusammen-

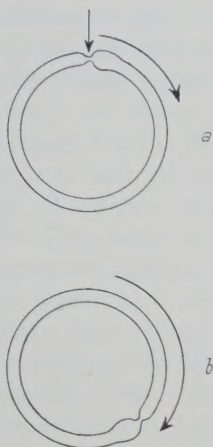


Abb. 2. Das Hinweggleiten einer Erregungs- und Kontraktionswelle bloss in einer Richtung über einen Gefäßring bei Reizung einer Stelle. Das Kreisen der Kontraktionswelle kann sowohl in der einen wie in der entgegengesetzten Richtung geschehen. a Einsetzen; b Fortschreiten der Welle im Sinne des Uhrzeigers.

ziehung eines Gefäßstückes zusammen, sondern auch mit dem Ausmass der Erschlaffung sowie der Dehnbarkeit des benachbarten Anteiles der Gefäßwand. Im allgemeinen werden die Dinge so liegen, dass jede kontrahierte Stelle vor sich eine erweiterte Stelle aufweist, während sie hinter sich eine ebensolche zurücklässt, freilich erst nach Ablauf einer bestimmten Zeit.

Diese Kontraktionswelle schreitet nun in beiden Richtungen über den Gefäßring hinweg, und sie wird an derjenigen Stelle erlöschen, die dem Ausgangspunkt der Kontraktionswelle gegenüberliegt. Damit kommt es auch zu einem Erlöschen der Strömung. In diesem Falle wurde der ganzen Natur des Systems nach das Blut in zwei einander entgegengesetzten Richtungen fortbewegt. Wenn nun die Muskulatur in der Gefäßwand im Anschluss an die Zusammenziehung erschlafft, gleichgültig ob aktiv oder passiv, so wird das Blut einfach nach dem Ausgangsort zurückströmen. Schliesslich ist ja eine Absperrung des Gefäßes in einer Richtung nur so lange gegeben, als das Gefäß zusammengezogen ist. Es wirkt also die Muskeltätigkeit bei der Zusammenziehung sowohl im Sinne der Herbeiführung einer Strömung als auch im Sinne der Erzielung eines Abschlusses. Unter diesen Bedingungen kommt allerdings ein *Kreislauf* des Blutes nicht zustande.

Es kann unter Umständen geschehen, dass die Ausbreitung der Erregungs- und Kontraktionswelle über ein solches Ringgefäß nur in einer Richtung vor sich geht (siehe Abb. 2). Dann wird das Blut vor dieser Kontraktionswelle hergetrieben, und es kreist in dem System so lange, als diese nicht erlischt. Ein solcher Umlauf des Blutes im Kreise ist durchaus denkbar, auch wenn er in der Natur nicht verwirklicht ist. Wir kennen aber im Herzen eine kreisende Erregung, die vielfach als Ursache für das Wogen und Wühlen angesehen wird<sup>1</sup>. Wir kennen sie auf einer primitiven Stufe des tierischen Lebens, bei den *Medusen*<sup>2</sup>. Wir können sie aber durch die ganze Tierreihe hindurch verfolgen, sogar bis zum menschlichen Herzen. Die Ausbreitung der Erregungswelle im Kreise kann in *zweierlei* Richtung vor sich gehen, sowohl in der einen als auch in der anderen von den beiden möglichen Richtungen. Der Gefäßschlauch ist an allen Stellen völlig gleichartig gebaut; demgemäss ist sowohl eine Peristaltik als auch eine Antiperistaltik denkbar, wobei fürs erste davon ausgegangen sein soll, dass die Unterlagen für eine derartige Ausbreitung der Kontraktionswelle in beiden Richtungen gleichartig ist. Wenn in einem solchen gedachten System ein Umlauf des Blutes statthat, so beruht dies einzig und allein auf dem Eingreifen der Muskulatur in der Wandung. Jede zusammengezogene Stelle betätigt sich wie eine Klappe oder ein Ventil; es bedarf also an und für sich nicht des Einbaues derartiger Einrichtungen, um die Strömungsrichtung zu regeln.

Bei der Herbeiführung einer Strömung kann eine Absperrung in der einen Richtung *periodisch* in Wirksamkeit treten. Es kann sich aber, besonders bei einem verwinkelten Kreislaufsystem, eine *anhaltende* Absperrung bestimmter Gefäßgebiete bemerkbar machen. Mit Recht müssen also diese beiden Zustände gesondert behandelt werden.

1. Bei dem vorhin gewählten Beispiel eines kontraktilen Gefäßringes spielt die periodische Absperrung eine wichtige Rolle. Sie muss aber weichen, damit der eben tätige Anteil auch als passives Rohr benutzt und mit Blut gefüllt werden kann. Ob es sich nun um ein kontraktils Gefäß oder ein richtig entwickeltes Herz handelt, ist im Endergebnis gleichgültig. Mit der Weite des Gefäßes bzw. der Ausdehnung des Herzens hängt bloss das Fassungsvermögen zusammen, damit also diejenige Menge von Blut, die bei einem einmaligen Ablauf einer peristaltischen Welle befördert wird.

Wie kann nun die Strömungsrichtung festgelegt werden? Hier spielt schon die *Ausgangsstelle* der peristaltischen Welle eine ausschlaggebende Rolle. Dazu

<sup>1</sup> E. v. SKRAMLIK, *Ergebn. Biol.* 15, 166 (1936); *Das Tier mit der Herzfrequenz*; 1. Kongressbericht II des XVI. Internat. Physiologen-Kongresses, Zürich (1938); *Pubbl. Staz. Zool. Napoli* 17, 130 (1938).

<sup>2</sup> S. DE BOER, *On the Fibrillation of the Heart. Pt. II. On the Relation Between Fibrillation of the Heart and "gehäufte" Extrasystoles*, *Versl. kon. acad. wetensch. (Amsterdam)*, Deel 28, 992 (1920), und *Proc. royal. Acad. Amsterdam* 23, 329 (1920); *Ergebn. Physiol.* 21, Abt. I, 1 (1921).

<sup>2</sup> G. R. MINES, *J. Physiol.* 46, 349 (1911). — E. v. SKRAMLIK, *Zool. Jb. Abt. Physiol.* 61, 297 (1945).



kommt eine Differenzierung des Kreislaufsystems in tätige Teile als solche, welche die Blutströmung in Gang bringen, und in untätige, die das Blut wie ein einfaches Rohr ohne selbständiges Eingreifen fördern.

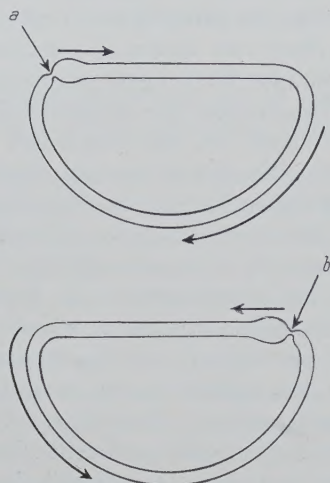


Abb. 3. Primitives Kreislaufsystem, das aus einem kontraktilem Anteil von geradem Verlauf besteht, während der restliche gebogene nur zur Leitung der Flüssigkeit dient. Wird der kontraktile Schlauch an einem Ende (*a* oder *b*) erregt, so gleitet die Erregungs- und Kontraktionswelle in einer Richtung über dieses primitive Gefäßsystem hinweg, bei Reizung von *a* im Sinne des Uhrzeigers, bei Reizung von *b* im entgegengesetzten Sinne des Uhrzeigers.

Auf diese Weise können wir einen treibenden (aktiven) Anteil von einem System von einfachen Röhren sondern, die einer selbständigen Kontraktion nicht mehr fähig sind und nur passiv zur Leitung der Flüssigkeit dienen (*Triebssystem* auf der einen, *Leitungssystem* auf der anderen Seite). Fassen wir (siehe Abb. 3) ein solches primitives Kreislaufsystem, das bloss an einer Stelle kontraktile ist, ins Auge, so ist es wieder ohne Schwierigkeit zu verstehen, dass sich das Blut jetzt von der Stelle, von der die Kontraktion ihren Ausgang nimmt, in zwei Richtungen genau so ausbreiten kann wie bloss in einer Richtung. Für diesen Erfolg ist es ausschlaggebend, ob die Kontraktionswelle von der Mitte oder den Enden des kontraktilem Schlauches ausgeht.

Setzt die Kontraktionswelle (siehe Abb. 4) an der Stelle *c* ein, so haben wir denselben Fall verwirklicht,

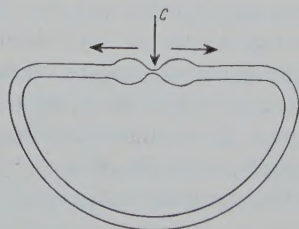


Abb. 4. Primitives Kreislaufsystem, das aus einem kontraktilem Anteil von geradem Verlauf besteht, während der restliche gebogene nur zur Leitung der Flüssigkeit dient. Wird der kontraktile Schlauch in der Mitte erregt (*c*), so gleiten zwei Erregungs- und Kontraktionswellen nach entgegengesetzter Richtung über dieses primitive Gefäßsystem hinweg. In diesem Falle kommt es zu keiner geregelten Strömung der Flüssigkeit.

wie er in Abbildung 1 zur Darstellung gekommen war, nur mit dem Unterschied, dass jetzt nicht der ganze Ring einer Zusammenziehung fähig ist, sondern nur ein Teil von ihm. Setzt dagegen die Kontraktionswelle an dem Eingang zu dem tätigen Schlauch ein, sei es bei *a*, sei es bei *b*, so kann das Blut das eine Mal in der einen, das andere Mal in der anderen Richtung befördert werden, wie dies durch die Pfeile angedeutet ist.

Es gibt nun eine ganze Anzahl von Kreislaufsystemen, die bloss aus Gefäßen bestehen und in die keine Klappen eingebaut sind. Bei den *Würmern*, vor allem *Herpobdella octoculata* L.<sup>1</sup> sowie *Glossosiphonia*<sup>2</sup> (siehe

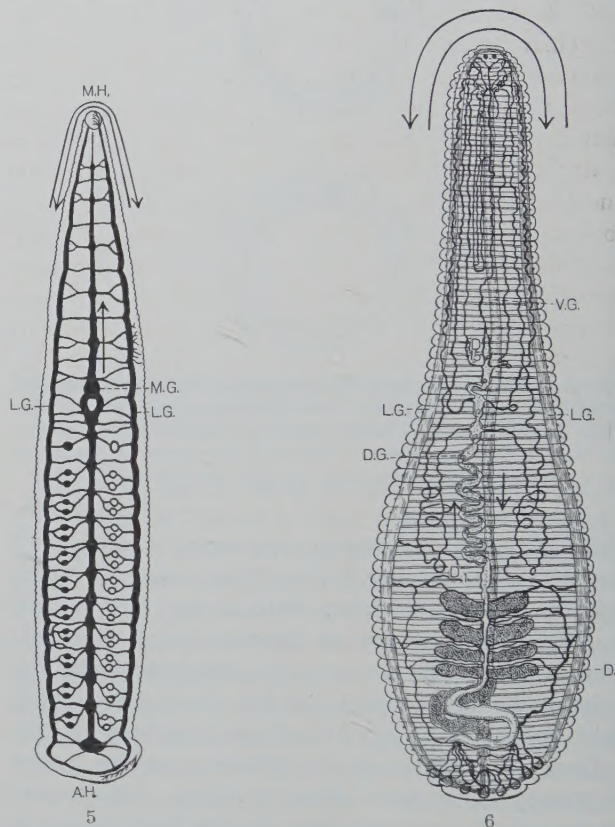


Abb. 5. Schema des Gefäßsystems von *Herpobdella octoculata* L. in etwa 4facher Vergrößerung. Entnommen aus A. GRAF «Hirudineenstudien», Abh. K.-Leopold-Akad. Naturforscher, Halle 72, 215 (1899). Es bedeuten: M.H. die Mundhaftscheibe; A.H. die Afterhaftscheibe; L.G. das Lateralgefäß; M.G. das Mittel- oder Bauchgefäß. Durch die Pfeile ist die Richtung des Blutstroms gekennzeichnet; sie wechselt in den Lateralgefäßen.

Abb. 6. Darstellung des Kreislaufsystems von *Glossosiphonia Johnson* nach BUDGE von der Dorsalseite aus gesehen, in etwa 3facher Vergrößerung. Es bedeuten: D. den Darm mit den Ausstülpungen; D.G. das Dorsalgefäß mit den zahlreichen Kammern von  $D_1$ – $D_{15}$ ; L.G. das Lateralgefäß; V.G. das Ventralgefäß. In dem Dorsalgefäß geht der Kreislauf vom Schwanz- zum Kopfe des Tieres vor sich, im Ventralgefäß vom Kopf- zum Schwanzteil. In den Lateralgefäßen kann entsprechend den Pfeilen (oben) die Strömungsrichtung wechseln.

<sup>1</sup> J. MÜLLER, Über den Kreislauf des Blutes bei *Hirudo vulgaris*. Meckels Arch. Anat. Physiol. 1828, S. 22. – E. v. SKRAMLIK, Blutkreislauf bei *Herpobdella octoculata* L. Nr. C 330 Zentralinstitut Film und Bild, Berlin (1939). – A. BIDDER, Untersuchungen über das Blutgefäßsystem einiger Hirudineen (Inaug.-Diss. Dorpat 1868).

<sup>2</sup> J. BUDGE, Verh. nat. hist. Vereins Pr. Rheinlande u. Westphalens, Bonn 6, 89 (1849).



Abb. 5 und 6), hat man den Fall verwirklicht, dass das Blut durch das Eingreifen der Lateralgefäße tatsächlich im Kreise umgetrieben wird. Die Hauptgefäße – drei bzw. vier – nehmen sämtliche von den Kapillaren im Afterteil ihren Ausgang, vor allem die beiden Seitengefäße. Zu diesen letzteren kommt bei *Herpobdella* ein Mittelgefäß, das sich zwischen den beiden Seitengefäßen dorsal gelagert befindet. Bei *Glossosiphonia* kommen zwei Mittelgefäße in Betracht, ein dorsales und ein ventrales. In den Seitengefäßen wird das Blut sowohl in der einen als auch in der anderen Richtung umgetrieben. Dabei nimmt die Erregungs- bzw. Kontraktionswelle in einem Seitengefäß unmittelbar am zugehörigen Teil des Kapillarsystems im Afterteil ihren Ausgang und pflanzt sich über das Kapillarsystem des Mundteils nach dem zweiten Seitengefäß fort. Zuletzt gelangt das Blut von neuem in das Kapillarsystem des Afterteils, jetzt aber von der anderen Seite. Diese Kreisbahn – wenn sich von einer solchen sprechen lässt – kann einmal in der einen, das andere Mal in der anderen Richtung durchgemessen werden. Im Mittelgefäß von *Herpobdella* dagegen strömt das Blut stets in der Richtung vom After- zum Mundteil. Bei *Glossosiphonia* wird das Blut im Dorsalgefäß vom After- nach dem Mundteil, im Ventralgefäß vom Mund- zum Afterteil getrieben.

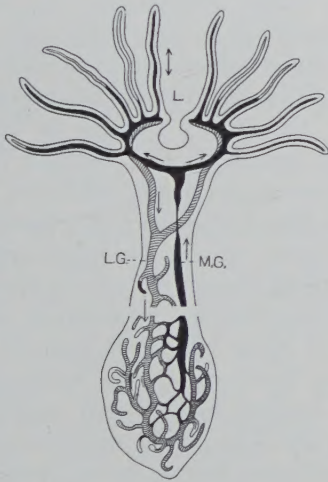


Abb. 7. Schema des Gefäßsystems von *Phoronis psammophila* nach BETHE in etwa 8facher Vergrößerung. Es bedeuten: L. Lophophor; L.G. Lateralgefäß; M.G. Medialgefäß. Durch die Richtung der Pfeile ist die Richtung des normalen Umlaufes des Blutes gekennzeichnet.

Gerade bei den Seitengefäßen haben wir den Fall verwirklicht, dass das Blut einzig und allein durch das Eingreifen von Muskeln in der Gefäßwandung umgetrieben wird. Da die ganze Anlage *symmetrisch* ist, besteht die Möglichkeit einer Kreisbewegung des Blutes in den Seitengefäßen sowohl in der einen als auch in der anderen Richtung, wobei die Richtungsänderung nach Ablauf einer Anzahl gleichsinniger Tätigkeiten eintritt.

Sehr interessante Verhältnisse liegen in dem Kreislaufsystem von *Phoronis psammophila* vor, wie es BETHE<sup>1</sup> beschrieben hat. Hier wird das Blut (siehe Abb. 7) aus dem sogenannten Mittelgefäß in eines der Lophophorgefäße getrieben, aus dem die Tentakelgefäße hervorgehen, die ihrerseits selbst blind endigen. Aus einem weiteren Lophophorgefäß, das zu dem erstgenannten parallel angeordnet ist, gelangt das Blut unter Benutzung einer Y-förmigen Bildung in das Seitengefäß, aus dem es durch die Magenkapillaren nach dem Mittelgefäß zurückgetrieben wird. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle strömt das Blut aus dem Mittelgefäß nach den Lophophorgefäßen und aus diesen wieder zurück nach dem Lateralgefäß. Es kann sich aber der Kreislauf ohne ersichtlichen Grund auch in der umgekehrten Richtung abspielen.

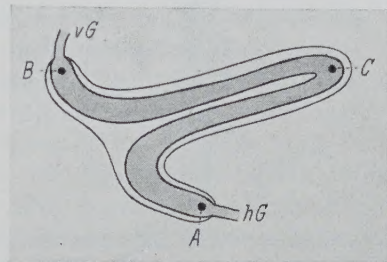


Abb. 8. Schlauchförmig gestaltetes Manteltierherz (von *Ciona intestinalis* L.) in etwa 3facher Vergrößerung. Die Erregungs- und Kontraktionswelle kann in beiden Richtungen über dieses Rohr hinwegschreiten. A, B, C sind Automatiezentren, A und B arbeiten periodisch rhythmisch. vG und hG bedeuten ventrales und hypobranchiales Gefäß.

Bei den genannten tätigen Gefäßen, gleichgültig ob es sich um das Kreislaufsystem von *Herpobdella*, *Glossosiphonia* oder *Phoronis* handelt, sind an keiner Stelle Klappen eingeschaltet, durch die die Strömungsrichtung des Blutes geregelt wird. In den Tentakelgefäßen, die blind endigen, geht die Strömung des Blutes einmal in der Richtung nach dem freien Ende des Tentakels, das andere Mal in der Richtung der Ansatzstelle des betreffenden Greifarmes am Lophophor vor sich. Es handelt sich also hier um eine Strömung des Blutes bloss im Sinne eines Hin- und Herschiebens. Im übrigen können wir bei den Lateralgefäßen von einer Peristaltik und Antiperistaltik sprechen, obgleich keiner dieser Begriffe für eine bestimmte Strömungsrichtung anzuwenden ist. Jedenfalls gilt dies für *Herpobdella* und *Glossosiphonia*, während bei *Phoronis* die eingeschalteten Organe eine peristaltische bzw. antiperistaltische Bewegung festzuhalten gestatten würden.

Auch bei anderen Tierstämmen gibt es Kreislaufsysteme, in denen das Blut zeitweise in der einen, aber auch in der entgegengesetzten Richtung umgetrieben

<sup>1</sup> A. BETHE, *Vergleichende Physiologie der Blutbewegung*, in «Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie» 7, 1. Hälfte (J. Springer, Berlin 1926), S. 3 ff.; Z. vgl. Physiol. 5, 555 (1927).



wird. Es handelt sich um die *Manteltiere*<sup>1</sup>. Doch wird in diesem Falle der Umlauf des Blutes nicht durch das Eingreifen pulsierender Gefässe, sondern durch das eines *Herzens* herbeigeführt. Dieses Organ (siehe Abb. 8) wird im wesentlichen durch einen Schlauch dargestellt, der einen grösseren Durchmesser besitzt, als er den an das Herz angeschlossenen Gefässen (auch allen übrigen) zukommt. In einem solchen System wird das Blut infolge des Schlagwechsels des Herzens eine Zeitlang in der einen, sodann in der anderen Richtung befördert.



Abb. 9. *Nereis diversicolor* O. F. Müll. in Schlangelbewegung mit eingezeichnetem Dorsalfessel in etwa normaler Grösse. Die Richtung des Pfeiles gibt die Richtung der normalen Blutströmung in dem Gefäss an. Man beachte, dass der Schwanzteil des Gefässes sehr viel enger ist als der Kopfteil.

Die Erregungs- und Kontraktionswelle nimmt einmal an dem einen, das andere Mal an dem anderen Ende des Herzens ihren Ausgang und pflanzt sich von hier über das ganze Herz fort. Klappen sind weder in das Herz noch in die Gefässe eingefügt. Sie dürfen es auch nicht sein, sonst würde ein Wechsel in der Strömungsrichtung des Blutes nicht durchführbar sein. Die Absperrung nach der einen Richtung erfolgt in diesem Falle genau so, wie bei den Gefässen durch die Zusammenziehung der Muskulatur in der Herzwand.

Wenn das Triebwerk durch ein an allen Stellen gleichartig, vor allem aber symmetrisch gebautes Gefässrohr oder Herz dargestellt wird, so kann der Umlauf des Blutes in dem angeschlossenen Kreislaufsystem sowohl in der einen als auch in der anderen Richtung bewerkstelligt werden. In dem Augenblicke, wo eine Symmetrie der Anlage nicht besteht, erfährt die Beförderung des Blutes in der einen Richtung eine Begünstigung, in der anderen eine Erschwerung. Solchen Verhältnissen begegnen wir bereits bei denjenigen Würmern, bei denen der Umlauf des Blutes durch das pulsierende Rückengefäss erzeugt wird. Dieses stellt

das Triebwerk dar, während alle anderen Gefässe bloss rein passiv für die Beförderung des Blutes da sind. Sehr einleuchtend sind die Verhältnisse bei *Nereis cultrifera* Grube. Hier stellt das Rückengefäss (siehe Abb. 9) ein Rohr dar, das nicht an allen Stellen gleichartig gebaut ist, vor allem nicht die gleiche Weite aufweist<sup>1</sup>. Es ist gegen den Schwanzteil des Tieres verjüngt, wird demgemäss gegen den Kopfteil zu (meist fortlaufend) weiter. Normalerweise wird hier das Blut durch Kontraktionswellen befördert, die vom Schwanzteil des Tieres ihren Ausgang nehmen und nach dem Kopfteil zu ziehen. Nicht als ob eine Rückbeförderung des Blutes, also ein Umlauf des Blutes in der entgegengesetzten Richtung unmöglich wäre; er stellt aber die Ausnahme, nicht etwa die Regel dar. Dadurch, dass sich das Gefäss im Schwanzteil verjüngt, genügt hier bereits ein geringer Zustrom von Blut, um eine Erweiterung herbeizuführen, die infolge des Dehnungsreizes zu einer Zusammenziehung führt. Die Kontraktionswelle, die hier ihren Ausgang nimmt, pflanzt sich gegen den Kopfteil des Tieres fort. Ein gleicher Zustrom von Blut würde an dem Kopfteil des Gefässes unter sonst gleichbleibenden Bedingungen zu keiner derartigen Dehnung führen, damit auch nicht zum Anregen einer Kontraktionswelle. Über die Strömungsrichtung entscheidet wenigstens in derartigen Fällen die *Asymmetrie* des Baues. Ein symmetrisch gebauter Motor begünstigt die Strömung in beiden Richtungen, ein asymmetrisch gebauter erschwert sie in einer Richtung.

Zu dem asymmetrischen Bau kann noch eine «Asymmetrie der funktionellen Anlage» hinzukommen, indem die einzelnen Anteile des Herzens in bezug auf die Leistung nicht gleichartig sind. Solchen Verhältnissen begegnen wir bereits bei den *Manteltieren*. Hier weisen die Enden des Herzschlauches eine grössere Leistungsfähigkeit in bezug auf das Aussenden automatischer Antriebe auf als die übrigen Anteile des Herzschlauches. Diese Eigentümlichkeiten beobachten wir in noch ausgeprägterem Masse bei den Herzen der *Wirbeltiere*. Die führenden Zentren, wie sie bezeichnet werden, sind bei den meisten *Fischen* und *Amphibien* in der Dreizahl, von den *Kriechtieren* einschliesslich aufwärts bis zum menschlichen Herzen in der Zweizahl gegeben. Sie befinden sich jeweils am *Eingang* zu der betreffenden Herzabteilung. Es differenziert sich also das Herz in bezug auf die Leistung, es differenziert sich im übrigen auch noch in bezug auf die Zahl und die Beschaffenheit der Herzabteilungen. Unter diesen Bedingungen wird ja eine Umkehr der Strömungsrichtung kaum zu verwirklichen sein, denn schliesslich kann sich die Erregungs- und Kontraktionswelle, die vom Automatiezentrum ihren Ausgang nimmt, für gewöhnlich nur in einer Richtung ausbreiten.

Des Interesses halber sei darauf hingewiesen, dass es ein Gefäss oder ein Herz bloss mit *einer* differenzierten

<sup>1</sup> E. V. SKRAMLIK, *Herzautomatiezentren vom Typus Cheyne-Stokes*, Abstr. Commun. XII<sup>th</sup> Intern. Physiol. Congr., Stockholm, Aug. 3, 1926, S. 228; Z. vgl. Physiol. 4, 607, 630 (1926); 9, 553 (1929); Bull. Inst. océanograph. Monaco, Nr. 548 (1930); (Berichtigung zu der Arbeit von QUINCKE und STEIN in Band 230 dieses Archivs) Pflüg. Arch. ges. Physiol. 253, 98 (1933).

<sup>1</sup> E. V. SKRAMLIK, Zool. Jb. Abt. Physiol. 61, 266 (1945).



Stelle in der Tierreihe *nicht* gibt. Es sind zumeist zwei solcher Stellen gegeben. Es entspricht dies dem von mir aufgestellten Prinzip der Sicherungen<sup>1</sup>. Wenn die führende Stelle versagt, so ist noch eine zweite vorhanden, die, wenn auch zumeist nicht vollwertig, so doch in einem nicht unbeträchtlichen Umfange die Leistung der ausgefallenen Stelle zu übernehmen vermag. Dadurch aber, dass zwei führende Stellen einander gegenüberstehen, muss für die Sicherung gegebenenfalls ein Wettstreit zwischen diesen Automatiezentren in Kauf genommen werden. Gerade dann, wenn sich die führenden Stellen, wie dies bei den Manteltierherzen der Fall ist, in der Leistungsfähigkeit nicht sehr stark voneinander unterscheiden, ist die Gefahr eines solchen Wettstreites gegeben<sup>2</sup>.

Es muss noch darauf hingewiesen werden, dass die Absperrung nach der einen Richtung durch das Eingreifen von Muskeln niemals vollständig ist. Es lässt sich einfach nicht vermeiden, dass in dem Augenblicke der Zusammenziehung einer Stelle, also bei Beginn der Kontraktionswelle, das Blut auch nach der falschen Richtung strömt. Gleichgültig um welches Herz es sich handelt, immer kommt es zu einem gewissen, wenn auch normalerweise sehr geringfügigen Rückstrom von Blut.

Damit haben wir nun an einer Anzahl von wesentlichen Fällen auseinandergesetzt, wie eine Blutströmung zustande kommt. Es geschah dies auf aktivem Wege durch Betätigung von Muskeln. Dabei nimmt die Kontraktionswelle nahezu immer an einer bestimmten Stelle ihren Ausgang. Ist dies nicht der Fall, so muss es zu einer Störung der Blutbeförderung kommen. Man braucht sich nur den Fall zu vergegenwärtigen, dass zum Beispiel die Kontraktionswelle in den Seitengefässen von *Herpobdella* nicht an dem Ausgang der Kapillaren im Afterteil, sondern mitten im Gefässverlauf ansetzt. Dann kommt es zu einer Strömung des Blutes in zwei einander entgegengesetzten Richtungen, wie wir es für den Fall des gedachten, im Ring angeordneten Kreislaufsystems haben. Solche Fälle sind gelegentlich zu beobachten, sie sind aber der Ausdruck für ein krankhaftes Geschehen.

2. In jedem höher entwickelten Kreislaufsystem muss es durch Absperrung bestimmter Gefässanteile zu einer länger anhaltenden Abschaltung von Kreislaufanteilen kommen. Diese Einrichtung sehen wir vor allem in den *Hülsenarterien* in der Milz, auch in den *Rougetischen Zellen* der Kapillaren. Kontrahieren sich diese Muskeln, so geht eine Blutströmung in dem betreffenden Gefässanteil für längere Zeit nicht vor sich (Abschaltungen). Dadurch besteht unter Umständen die Notwendigkeit zu einer Umschaltung im Blutkreislauf. Es kann aus diesem Anlass sogar zu einer Umkehr der Stromrichtung kommen.

### B. Passive Mechanismen

Es gibt in jedem Kreislaufsystem eine Anzahl von Einrichtungen, durch die die Blutströmung in einer bestimmten Richtung auf *passivem* Wege geregelt wird.

1. Schon die Anlage des betreffenden Gefässes oder Herzens ist für die Strömungsrichtung von Bedeutung. Als Urform eines Motors für das Blut in einem Kreislaufsystem haben wir das kontraktile Gefäss kennengelernt. Es ist überall gleichmässig gebaut und stellt in bezug auf die zu- und ableitenden Gefässe wie in bezug auf seinen Mittelteil eine *symmetrische* Anlage dar. Aus diesem primitiven Gefässrohr entwickelt sich aufsteigend in der Tierreihe infolge mannigfacher Umwandlungen durch Windung, Einstülpung, Einschnürung und Verwachsung das sehr kompliziert gebaute Herz der Wirbeltiere, vor allem der Vögel, Säugetiere und Menschen. Es kommt weiter zu einer Gliederung des Herzens in Abteilungen, die untereinander nicht gleichwertig sind, weder in bezug auf den Bau noch in bezug auf die Funktion. Man denke an die Vorhöfe und an die Kammern, man denke weiter an die Gefässe, die das Blut den Vorhöfen zu- und an diejenigen, die es aus den Kammern abführen. Jetzt haben wir keine symmetrische Anordnung vor uns, im Gegenteil fällt uns die *Asymmetrie* der Anlage auf, wenn wir uns die Anordnung Venen-Vorhöfe-Kammern-Arterien, zum Beispiel beim Menschenherzen, vor Augen führen. Auch sind die Verbindungen zwischen den einzelnen Abteilungen untereinander durchaus nicht gleichartig gestaltet; sie weichen übrigens im Aufbau sogar von den benachbarten Herzabteilungen ab, die sie verknüpfen. Erwähnt sei hier der sogenannte Atrioventrikulartrichter des Amphibienherzens, der ja eine Einstülpung der Vorhöfe in die Kammer bzw. die Kammern ist, die sich zum Teil recht tief in das anschliessende Gebilde einsenkt. Wenn auch die Erregungs- und Kontraktionswelle in einem solchen verwickelt gebauten Herzen in beiden Richtungen übertragen werden kann, so unterliegt es keinem Zweifel, dass ein solcher Motor zum Umtreiben des Blutes in *einer* Richtung besser geeignet ist als in der anderen.

Dazu kommt die verschiedene Weite der zu- und abführenden Gefässe sowie deren Wanddicke. Denkt man an eine Stromumkehr beim Menschenherzen, so wäre die Aorta gar nicht geeignet, die Menge Blutes zu fassen, die zur Einfüllung der Kammern nötig ist. Sie kann also niemals den Vorhof ersetzen, der auch zur Bereitstellung von Blut für die Kammer da ist, und zwar zu der Zeit, da sich diese zusammenzieht. Die Dicke der Aortawand wäre völlig bedeutungslos, denn sie hätte ja nicht mehr den ersten Anprall des Blutes auszuhalten, das den Kammern entströmt. Es würde sich im Gegenteil der ganze Anprall jetzt an den Vorhöfen auswirken, wenn die starkwandigen Kammern das Blut nach den zartwandigen Vorhöfen zu treiben. Dies kommt wohl unter pathologischen Verhältnissen vor. Wir wissen es aber aus zahlreichen Erfahrungen,

<sup>1</sup> E. v. SKRAMLIK, Dtsch. med. Wschr. 1927, Nr. 35; Dtsch. Gesundheitswesen 1946, H. 16, 488.

<sup>2</sup> E. v. SKRAMLIK, Münch. med. Wschr. 1939, 315; Nr. C 275 Zentralinstitut Film u. Bild, Berlin.



dass eine derartig krankhafte Störung zu einer Veränderung in dem Bau und der Leistung des Vorhofs führt<sup>1</sup>.

2. Im Kreislaufsystem vieler Tierstämme, besonders der höchsten, kommt eine Umkehr der Strömungsrichtung auch unter pathologischen Verhältnissen nur auf kurze Strecken in Frage. Es ist dies auf *Klappen-einrichtungen* zurückzuführen, wobei jetzt nur derjenigen gedacht werden soll, die sich in den *Venen* und im Anfangsteil der *grossen arteriellen Gefässe* befinden. Diese Taschenklappen werden nämlich rein passiv betätigt. Wir finden sie in der Einzahl genau so häufig wie in der Vielzahl. Eine einzelne Tasche treffen wir in dem Herzen einer grossen Anzahl von Wirbellosen, in der Zweizahl stossen wir vor allem in den Venen der Warmblüter auf sie. Hier stehen zwei solche Taschen einander gegenüber. Sie weichen bei der Strömung des Blutes in der einen Richtung auseinander, während sie sich in der anderen verschliessen. Im letzteren Falle legen sie sich in breiter Fläche einander an, und zwar nicht etwa bloss mit den Rändern. Unter diesen Bedingungen wird eine weitgehende Abdichtung erzielt.

Bei diesem Geschehen spielt eine anatomische Bildung in der Umgebung der Klappe eine wichtige Rolle. Die Gefässe sind nämlich an dieser Stelle etwas *erweitert*. Es kommt zu jenen Einrichtungen, die wir als *Sinus* bezeichnen. Wir finden sie im Anfangsteil der grossen arteriellen Gefässe der Warmblüter als *Sinus Valsalvae* wieder. Die Bedeutung dieser Sinus liegt darin, dass sich die Taschenklappen beim Auseinandergehen nicht etwa der Innenwand des Gefässes anlegen, was zu einer Störung beim nachfolgenden Schluss führen müsste. Sie nehmen vielmehr eine Art von Mittelstellung ein. Zwischen der Taschen- und der Gefässinnenwand befindet sich stets eine bestimmte Menge von Blut, das von den Sinus abgefangen wird und für das Zustandekommen des Abschlusses der betreffenden Gefässe bedeutungsvoll ist. Der gesamte Mechanismus ist rein passiver Natur und bedeutet die Schaffung einer *Asymmetrie des Widerstandes*, indem der Widerstand gegenüber dem Blutdurchtritt in der einen Richtung sehr gross, in der anderen sehr gering ist.

Im Anfangsteil der grossen arteriellen Gefässe des Herzens von den Vögeln einschliesslich bis zum Menschen sind *drei* solcher Taschen gegeben (Semilunarklappen). Sie verzapfen sich beim Schluss. Die *Noduli Arantii* spielen hier eine wichtige Rolle, indem sie die Abdichtung begünstigen. Solche Taschenklappen finden wir in grosser Zahl und in mehreren Reihen angeordnet auch im *Truncus arteriosus* der *Knorpelfische*. Jetzt aber kommt ein rein passiver Mechanismus für den Abschluss nicht in Frage; die Abdichtung wird nämlich hier auch durch das Eingreifen von Muskeln besorgt (vgl. S. 447).

3. Die Strömung des Blutes in einer bestimmten Richtung wird weiter durch jenes physikalische Prinzip unterstützt, das man als das der *Wasserstrahlpumpe* bezeichnet. Überall dort, wo Flüssigkeiten

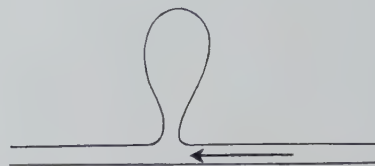


Abb. 10. Das Prinzip der Wasserstrahlpumpe in den Tentakelgefässen von *Phoronis* (schematisch). Der Pfeil deutet die Richtung der Strömung im Hauptgefäss an.

strömen, macht sich (siehe Abb. 10) in den Seitenzweigen eine Art von Sog bemerkbar. Dieser spielt sogar bei Endgefässen eine Rolle, wie sie zum Beispiel bei *Phoronis* vorkommen. Diese werden auch infolge des Sogs entleert und damit ihr Inhalt erneuert. Es geschieht dies also nicht allein durch Peristaltik bzw. Antiperistaltik der Muskeln in der Wand der Endgefässe. Einem derartigen Vorgang begegnen wir sogar beim Herzen der Säugetiere und des Menschen. Die Entleerung des *Sinus coronarius*, der in den rechten Vorhof einmündet, wird durch den Sog begünstigt, der bei der Strömung des Blutes aus dem rechten Vorhof in die rechte Kammer entsteht. Freilich hängt die Richtung des Ausstromes aus derartigen seitenständigen Behältern von der Richtung der Hauptströmung ab. Sie verlaufen beide parallel.

### C. Aktive und passive Mechanismen in Kombination

Nunmehr ist es unsere Aufgabe, diejenigen Einrichtungen für die Regelung der Blutströmung zu beschreiben, bei denen sich aktive Mechanismen genau so bedeutungsvoll erweisen wie passive. Beide kombinieren sich nämlich vielfach miteinander, wie vor allem die vergleichend physiologischen Untersuchungen lehren. Auch in diesem Falle empfiehlt es sich, zuerst die kombinierten aktiv-passiven Einrichtungen zu behandeln, die einer kurz dauernden Absperrung dienen; im Anschluss sollen diejenigen besprochen werden, die zum Zwecke eines länger anhaltenden Abschlusses von Gefässgebieten da sind.

1. a) Einen aktiv-passiven Mechanismus zur Regelung der Blutströmung haben wir schon durch die gegenseitige Beeinflussung benachbarter Abteilungen gegeben. Wir beobachten sie vor allem bei den Herzen der *Wirbellosen*, bei denen der Dehnungsfaktor<sup>1</sup> für die Anregung zur Tätigkeit von ausschlaggebender Bedeutung ist. Vielfach sind die Herzabteilungen in der Längsrichtung hintereinandergeschaltet, so dass die Zusammenziehung des einen gleichzeitig die Dehnung des benachbarten Teiles herbeiführt. So bedeutet beim

<sup>1</sup> E. v. SKRAMLIK, Diskussionsbemerkung zu dem Vortrag über die Mitralstenose von Prof. Dr., Dr. h. c. THEODOR BRUGSCH am 2. Dezember 1953, Z. ges. inn. Med. u. Grenzgebiete 9, 207 (1954).

<sup>1</sup> E. v. SKRAMLIK, Pflüg. Arch. ges. Physiol. 221, 503 (1929); Z. vgl. Physiol. 10, 1 (1929); Ergebn. Biol. 18, 88 (1941).



*Schneckenherzen* eine Zusammenziehung des Vorhofs eine Dehnung und Erweiterung der Kammer, die ihrerseits zu einer Zusammenziehung dieses Herzteils Anlass gibt. Eine Zusammenziehung der Kammer bedeutet wiederum eine Dehnung des Vorhofs, der damit die Anregung zur Tätigkeit empfängt.

Ausserdem stehen die Herzabteilungen wirbelloser Tiere vielfach durch *Bänder* untereinander in Verbindung. Wir begegnen derartigen Einrichtungen vor allem bei den *Kopffüssern*. Zieht sich ein Herzanteil zusammen, so dehnt er über das Band gleichzeitig den benachbarten. In einem solchen Falle brauchen die Herzabteilungen gar nicht in der Längsrichtung angeordnet zu sein. Die Aufeinanderfolge, in der sie in Tätigkeit geraten, wird dann in hohem Masse von demjenigen Teil abhängen, der zuerst zu arbeiten beginnt. An und für sich ist es für die Tätigkeitsweise als solche gleichgültig, ob der Vorhof oder aber die Kammer als erstes arbeiten. Unter diesem Gesichtspunkt könnte also die Strömung des Blutes sowohl in der einen als auch in der anderen Richtung erfolgen. Wenn dies nicht der Fall ist, so beruht es vorzugsweise darauf, dass ja zwischen die einzelnen Herzabteilungen Klappen eingeschaltet sind.

Ähnlichen Mechanismen begegnen wir auch bei den Herzen der Wirbeltiere. Hier sind allerdings die einzelnen Abteilungen nicht in der Längsrichtung angeordnet, auch gibt es keine bandartigen Verbindungen mehr. Wohl aber wissen wir, dass ein Herzabschnitt auf den benachbarten durch die *Art* seiner *Zusammenziehung* einwirken kann. So nähert sich bei einer Betätigung der Kammern die Basis der Spitze. Das bedeutet, dass der vorgeschaltete Vorhof gedehnt wird. Jetzt kann er aus den angrenzenden Venen besser eingefüllt werden. Dazu kommt die Abknickung der Kammern gegenüber den Vorhöfen, die den Schluss der dort befindlichen Klappen unterstützt. Bei der Zusammenziehung vollführt die Kammer auch noch eine spiralige Drehung um ihre Längsachse, die im gleichen Sinne wirkt. Das alles ist von Vorteil, solange das Herz normal arbeitet. Arbeitet es dagegen *antiperistaltisch*, so wird diese Form der Zusammenziehung das Austreiben von Blut nach den Vorhöfen auf das schwerste hindern. Dieses Geschehen leuchtet noch mehr ein, wenn wir die Verhältnisse an dem Übergang der venösen Gefässe in die Vorhöfe berücksichtigen, deren Einmündung niemals in gerader Richtung, vielmehr in schräger erfolgt. Der Verlauf des venösen Gefässes schliesst mit der Wandung der Vorhöfe einen Winkel ein, der im linken Vorhof etwa 90°, im rechten etwa 60° beträgt. Unter diesen Bedingungen kann bei einer Zusammenziehung der Vorhöfe der Eingang zu den Venen sehr leicht verlegt werden. Arbeitet das Herz in normaler Weise, so wirkt sich dieser kombinierte aktiv-passive Mechanismus für die Regelung der Blutströmung günstig aus. Arbeitet dagegen das Herz rückläufig, so verlegt der Vorhof bei seiner Zusammen-

ziehung sich selbst den Ausgang, und er kann das Blut nach den Venen nicht austreiben (Selbstabsperrung).

b) Aktiv-passive Mechanismen, welche die Strömung des Blutes in *einer* Richtung vermitteln, sind alle Arten



Abb. 11. Kammern des Dorsalgefässes von *Glossosiphonia Johnson* von  $D_{13}$ – $D_{15}$ . Es sind die Kugelventile *V.* eingezeichnet, die mit einem Stielchen an der Seite der Kammer, nahe deren Zugang, befestigt sind und die die Strömungsrichtung des Blutes in diesem Gefäss regeln, die durch den Pfeil gekennzeichnet ist.

von Klappen mit Ausnahme derjenigen, die schon besprochen wurden. Sie erweisen sich innerhalb der Tierreihe als ganz verschiedenartig gebaut. Vor allem soll hier jenes interessanten Gebildes gedacht werden, bei dem die Klappe in der Herzkammer durch eine Art von Kugelventil dargestellt wird. Es handelt sich um Gebilde in den Herzkammern des Dorsalgefässes von *Glossosiphonia* (siehe Abb. 11). Die Blutströmung findet in diesem Gefäss, worauf schon an anderer Stelle hingewiesen wurde, stets in *einer* Richtung statt, und zwar vom After- zum Kopfteil. Ein Rückstrom auf längere Strecken ist völlig ausgeschlossen: es hängt dies damit zusammen, dass sich im Innern einer jeden Kammer, und zwar jeweils an deren Eingang, ein Kugelventil eingebaut befindet. In der Richtung der Blutströmung ist der Zugang zur Kammer frei; das Ventil weicht da leicht aus. Sowie sich aber die Kammer zusammenzieht, wird es gegen ihren Eingang geschleudert und verlegt ihn. Mit Recht wird man sich die Frage vorlegen, ob dieser Mechanismus einwandfrei arbeitet. Ein derartiges Ventil könnte ja bei der Zusammenziehung der Herzkammer an eine ganz falsche Stelle geraten, so dass die erforderliche Dichtung nicht gewährleistet ist. Das Kugelventil wird aber am Eingang zur Kammer durch einen dünnen, kurzen Gewebefaden festgehalten, kann also von hier nicht weit weggetrieben werden.

Ein Analogon zu diesem Kugelventil im Innern einer Herzkammer ist dasjenige, das wir im Perikardialraum vieler Manteltierherzen antreffen. Unter normalen Bedingungen bewegt sich dieses «*Perikardialkörperchen*» während der Tätigkeit des Herzens im Perikardialsack hin und her. Es wandert in der Richtung der Kontrak-



tionswelle, und zwar befindet es sich stets derjenigen Stelle des Herzens angelegt, die durch die Kontraktion maximal verengt ist. Es bewegt sich langsam mit dieser Kontraktionswelle vom einen Ende des Herzschauches zum anderen, kehrt aber *schnell* an die Ausgangsstelle zurück, sobald die Kontraktionswelle abgeklungen ist. Dann setzt seine Wanderung von neuem ein. Entsprechend der Schlagumkehr des Herzens bewegt sich das Perikardialkörperchen mit der Kontraktionswelle einmal in der einen, das andere Mal in entgegengesetzter Richtung. Im wesentlichen dient es dazu, die Abdichtung der zusammengezogenen Stelle des Herzens zu sichern.

Der Abschluss des Herzens in einer Richtung wird also nicht nur durch die tätige Muskulatur, also einen aktiven Faktor, sondern auch durch das Perikardialkörperchen, eine passive Einrichtung, erzielt. Bei den *Würmern* wirkt sich das Kugelventil im Innern der Kammer aus, bei den *Manteltieren* ausserhalb der Kammer. Freilich behindert das Kugelventil bei den letzteren die Blutströmung in beiden Richtungen nicht, während es im ersteren Falle eine Asymmetrie des Widerstandes schafft. Sein Zweck ist aber in beiden Fällen der gleiche, nämlich die Abdichtung der Kammer in einer Richtung; diese wird bei den Würmern in viel vollkommenerer Weise erreicht.

Es ist dies der einfachste Fall, in dem aktive und passive Mechanismen zur Regelung der Strömungsrichtung ineinandergreifen. Man kann daraufhin sogar eine Regel aufstellen: Dort, wo die Muskelwandung des kontraktilen Gebildes *kräftig* ist, wie bei den Seitengefässen zum Beispiel von *Herpobdella*, bedarf es einer solchen Sicherung in Form eines Kugelventils nicht. Wo dagegen die Wandung *dünn* ist, wie zum Beispiel bei *Glossosiphonia* oder den Manteltieren, da erweist sich ein solches Kugelventil als sehr zweckmässig, gleichgültig, ob es im Innern des Herzens oder ausserhalb desselben im Perikardialraum untergebracht ist.

Weitere Einrichtungen, bei denen sich aktive und passive Mechanismen im Sinne der Regelung der Blutströmung in einer Richtung auswirken, sind die *Sichel-, Segel-, Taschen- und Spiralklappen* in den Wirbeltierherzen. Sichelklappen<sup>1</sup> finden sich an der Übergangsstelle des Sinus venosus in den rechten Vorhof bei den Fisch-, Amphibien- und Reptilienherzen. Der Eingang zum Herzen muss zur Zeit der Zusammenziehung dieses Vorhofs abgesperrt sein. Durch zweierlei Vorrichtungen ist für eine solche Abdichtung Sorge getragen: einmal befindet sich an dieser Stelle kräftigere Muskulatur im Ring angeordnet, die in Tätigkeit gerät, sobald die Kontraktionswelle, die vom Sinus bzw. den vorgeschalteten Hohlvenen ihren Ausgang nimmt, auf den rechten Vorhof übergeht. Zieht sich dieser Ringmuskel zusammen, so wird (genau so wie dies bei der Iris in bezug auf den Strahleneinfall zur Netzhaut der Fall ist) der Eingang zum Vorhof verkleinert. Das

aber reicht zu einer völligen Abdichtung noch nicht aus. Deswegen sind an dieser Stelle – einander gegenüberstehend – 2 halbmondförmige Sichelklappen angeordnet, die so arbeiten wie manche Verschlüsse bei photographischen Apparaten. Sie lagern sich bei Zusammenziehung übereinander und bewirken so eine völlige Abdichtung.

Bei den Vogel-, Säugetier- und Menschenherzen liegen an der gleichen Stelle *andere* Verhältnisse vor. Hier weist das venöse Vorherz, das dem Sinus der Kaltblüter entspricht, eine sehr starke Verkümmern auf. Es handelt sich jetzt vorzugsweise um die Abdichtung der grossen Hohlvenen, die zumeist getrennt voneinander in den rechten Vorhof einmünden und mit ringförmig angeordneter Muskulatur ausgestattet sind. Die Vena cava caudalis verfügt noch über Reste einer Sichelklappe (Valvula venae cavae caudalis sive *Eustachii*). Die beiden Venae cavae craniales beim Vogel- und bei manchen Säugetierherzen (zum Beispiel dem Igel) haben eine solche Klappeneinrichtung nicht mehr, ebensowenig die *eine* Vena cava cranialis bei den meisten Säugetieren und beim Menschen. Im übrigen muss im rechten Vorhof noch ein Gefäss verlegt werden, das jenes Blut zum Herzen zurückführt, das ihm selbst von der Aorta aus zur Verfügung gestellt wird, der Sinus coronarius. Hier befindet sich die Valvula sinus coronarii sive *Thebesii*. Die Wirkung dieser Klappe wird noch verstärkt durch zwei andere, von denen sich die eine in der Vena magna cordis (Valvula *Vieussenii*), die andere in der Vena interventricularis dorsalis befindet, die beide in den Sinus coronarius einmünden. Hier wird die Verlegung des venösen Gefässes zur Zeit des Bedarfes nicht allein durch die Zusammenziehung ringförmig angeordneter Muskulatur, sondern auch durch die erwähnten Klappen herbeigeführt. Es ist aber fraglich, ob der Abschluss des Vorhofes gegenüber den Venen durch diese Muskulatur allein gewährleistet ist, um so mehr als richtige Klappen vielfach fehlen. Sicher spielt für die Abdichtung auch die Art und Weise eine Rolle, in der die genannten venösen Gefässe in den Vorhof einmünden<sup>1</sup>.

Von grossem Interesse ist die Bildung und Funktion der Atrioventrikularklappen im Herzen der *Rundmäuler, Fische, Amphibien* und *Reptilien*. Sie erinnern in hohem Masse an jene, die wir im Herzen des Menschen und der Säugetiere finden. Während aber im letzteren Fall zwei solcher Klappeneinrichtungen gegeben sind (je eine für das rechte und linke Herz), befindet sich hier nur eine Klappe. Eine Ausnahme bildet allerdings das Herz der *Crocodylier*, das bereits eine völlige Trennung in zwei Abschnitte erkennen lässt. Die Atrioventrikularklappe besteht aus zwei bindegewebigen Wülsten, die einander gegenüberstehen. Man kann in diesem Falle nicht recht von einer Segel-, auch nicht von einer Taschenklappe sprechen, obgleich das Gebilde in seiner Funktion an die erstere weitgehend erinnert.

<sup>1</sup> E. v. SKRAMLIK, Z. ges. exper. Med. 14, 146 (1921).

<sup>1</sup> E. v. SKRAMLIK, Z. ges. inn. Med. u. Grenzgebiete 9, 157 ff. (1954).



Der Abschluss der Vorhöfe gegenüber den Kammern wird in erster Linie durch ringförmig angeordnete Muskulatur herbeigeführt, welche im Innern des Herzens den sogenannten *Atrioventrikulartrichter* umfasst. Die Anordnung und Bildung ist im Herzen der einzelnen Tierstämme der Kaltblüter verschieden; setzt sich ja doch das Herz der *Rundmäuler* und *Fische* nur aus einem Vorhof und einer Kammer zusammen. Im Herzen der *Amphibien* und meisten *Reptilien* finden wir bereits zwei Vorhöfe und eine Kammer, so dass der Atrioventrikulartrichter durch die herabragende Scheidewand der Vorhöfe in zwei Hälften unterteilt wird. Das Septum verfestigt gewissermassen die Wülste, denn es ist senkrecht zu ihnen angeordnet und mit ihnen verbunden. Durch Zusammenziehung des Trichters werden diese bindegewebigen Wülste einander sehr stark genähert. Der völlige Abschluss wird aber dadurch herbeigeführt, dass sie durch den Anprall von Blut, das infolge der Zusammenziehung der Kammern unter einem hohen Druck steht, in breiter Fläche aneinandergedrückt und gegen die Vorhöfe zu ausgebuchtet werden. Die Gefahr eines Durchschlagens dieser Wülste nach der falschen Seite ist nicht zu befürchten, weil ihre Ränder mit Hilfe feiner Sehnenfäden an der Kammerinnenwand befestigt sind. Diese Sehnenfäden gehen in Muskelbündel über, welche sehr stark an die Papillarmuskeln im Menschen- und Säugetierherzen erinnern.

Nunmehr muss die Rede auf die gleichen Klappen im Herzen der *Vögel*, *Säugetiere* und *Menschen* gebracht werden. In diesem Falle wird allerdings am besten von *Segelklappen* gesprochen. Da das Herz schon in zwei Anteile gesondert ist, in einen rechten und einen linken, so müssen hier zwei Klappeneinrichtungen gegeben sein: die Zweizipfelklappe im linken, die Dreizipfelklappe im rechten Herzen.

Diese Klappen sind an jenem Gebilde festgemacht, das sich an dem Übergang von den Vorhöfen zu den Kammern befindet und als Faserring bezeichnet wird. Die Faserringe im linken und rechten Herzen weisen verschiedene Form auf. Im linken Herzen ist die Umgrenzung oval, im rechten mehr kreisförmig. Die Klappeneinrichtung selbst besteht aus mehreren Anteilen. Es handelt sich einmal um die Segel, das sind Häute, die an dem Faserring befestigt sind, zwei im linken, drei grössere mit zusätzlich zwei kleineren im rechten Herzen. Dazu kommen die Sehnenfäden, durch die die Hauptsegel mit den Papillarmuskeln in Verbindung treten, die ihrerseits an der Herzinnenwand befestigt sind. Zwei solcher Papillarmuskeln bedienen die linke, drei die rechte Atrioventrikularklappe.

Zum Zwecke der Regelung der Blutströmung müssen hier *zwei* Mechanismen ineinandergreifen: ein aktiver, gegeben durch Muskeln, ein passiver, gegeben durch Segel mit deren Befestigung. An dem aktiven Mechanismus sind beteiligt: die Muskulatur, die den Faserring rechts bzw. links umgibt, und zwar in einer solchen

Weise, dass er vollkommen umfasst wird, sodann die Papillarmuskeln.

Es ist nunmehr die Art des Abschlusses sowie der Eröffnung dieser Klappeneinrichtungen zu besprechen. Zum Zwecke des *Abschlusses* wird der Eingang zu den Kammern von seiten der Vorhöfe durch Zusammenziehung des Atrioventrikularrings enger gemacht. Dadurch werden die Segel einander genähert. Nun greifen in das ganze Geschehen weitere Hilfsmechanismen ein. Es handelt sich um das Blut, das in der Herzkammer angesammelt ist und das unter dem Einfluss der Zusammenziehung der betreffenden Abteilung unter einen hohen Druck gesetzt wird. Dieser Druck wirkt sich an den Segeln in der Weise aus, dass sie einander bis zur völligen Abdichtung genähert werden. Dabei spielt auch die Blutmasse eine Rolle, die sich zwischen der Aussenwand der Segel und der Herzinnenwand angesammelt hat. Durch die Papillarmuskeln werden die Segel stets in einer solchen Weise gehalten, dass sie der Herzinnenwand nicht etwa anliegen, sonst bestünde genau so wie bei den Semilunarklappen die Gefahr, dass sie beim Schluss nicht aneinanderprallen. Auch könnte es geschehen, dass die Segel infolge des hohen Druckes in der Kammer nach der falschen Richtung, das ist nach den Vorhöfen, durchschlagen. Das aber wird verhütet, weil die Segel über die Sehnenfäden mit den Papillarmuskeln zusammenhängen.

Die völlige Abdichtung der Vorhöfe gegenüber den Kammern wird zuletzt dadurch herbeigeführt, dass an den Rändern und dort, wo die grossen Segel aneinandergrenzen, eine gewisse Verzapfung statthat. Die Verschlussfigur der Segel ist demgemäss recht verwickelt, und zwar nicht allein bei der Drei-, sondern auch bei der Zweizipfelklappe, die ja zweifellos etwas einfacher gebaut ist als die erstere.

Zum Zwecke der *Öffnung* der Klappen müssen sich im Herzen die Verhältnisse grundlegend ändern. Vor allem erschlafft die Basismuskulatur. Dadurch wird der Eingang zu den Herzkammern nicht unbeträchtlich erweitert, da ja die Faserringe auseinandergehen. So entfällt schon eine wesentliche Sicherung für den Verschluss der Klappe, die jetzt infolge des Druckanstieges im Vorhof leicht geöffnet werden kann. Wahrscheinlich greifen auch die Papillarmuskeln in das Geschehen ein, indem durch ihren Zug die Erweiterung der Öffnung zwischen Vorhof und Kammer wesentlich begünstigt wird. Auch werden die Segel durch die Papillarmuskeln in einer Art von Mittellage gehalten, die ihr Anlegen an die Kammerinnenwand ausschliesst, ein Geschehen, das für den nachfolgenden Klappenschluss von grösster Bedeutung ist.

Damit kommen wir zu dem Ergebnis, dass sowohl der Schluss als auch die Öffnung der Atrioventrikularklappen das Eingreifen von Muskeln erforderlich macht. Es macht den Eindruck, als ob eine gewisse antagonistische Tätigkeit zwischen der Muskulatur des Faser-



ringes an der Basis und den Papillarmuskeln bei der Öffnung bzw. beim Schluss der Segelklappen von Bedeutung wäre. Allerdings müssen diese Verhältnisse noch einer genauen experimentellen Untersuchung unterworfen werden.

An anderer Stelle wurde schon darauf hingewiesen, dass der Abschluss der Kammern gegenüber den grossen angeschlossenen arteriellen Gefässen vielfach durch einen passiven Mechanismus zustande kommt. Eine Ausnahme bilden die entsprechenden Einrichtungen bei zahlreichen Fischen, ferner bei den Amphibien und Reptilien. So ist der Anfangsteil des *Truncus arteriosus* bei manchen Fischen einer aktiven Kontraktion fähig, weil hier ringförmig angeordnete Muskulatur vorhanden ist. Dazu kommen noch die zahlreichen *Taschenklappen*, die sich im Conus arteriosus in verschiedenen Reihen angeordnet befinden.

Bei der *Spiralklappe* im Anfangsteil des Bulbus arteriosus der *Frösche*<sup>1</sup> handelt es sich um einen sehr verwickelten Mechanismus: einmal ist dieses Gebilde mit Muskulatur ausgestattet, die in Spiralen angeordnet ist. Dazu kommt noch der Einbau jener Klappe, die mit Rücksicht auf ihre Form als Spiralklappe bezeichnet wird und die an eine Wendeltreppe erinnert. Der Mechanismus dieser Klappenvorrichtung ist noch nicht genügend geklärt. Sicher ist das eine, dass sich bei der Zusammenziehung des Bulbus arteriosus die Ränder der Spiralklappe der Wand des Gefässes anlegen. Dadurch wird eine Abdichtung zu dem Zeitpunkt erzielt, wo die Kammer ihre Tätigkeit einstellt. Die Spiralklappe hat aber neben der Abdichtung des Bulbus gegenüber der Kammer auch noch eine andere Funktion zu erfüllen, nämlich die Regelung der Blutverteilung nach dem Körper bzw. den Lungen; wir haben bei diesen Tieren ja noch nicht eine eigene Lungenarterie gegeben, sondern ein Gebilde, bei dem Aorta und Arteria pulmonalis miteinander verschmolzen erscheinen. Infolgedessen muss dafür Sorge getragen sein, dass die Funktion der Abdichtung mit der Vorrichtung zur Blutverteilung gepaart ist und dass diese beiden Mechanismen zweckmässig ineinandergreifen.

Bei allen Klappeneinrichtungen, bei denen sowohl aktive als auch passive Mechanismen eine Rolle spielen, liegen sehr verwickelte Verhältnisse vor. Die Asymmetrie in der Aufeinanderfolge des Spieles der Mechanismen tritt am klarsten zutage, wenn die gesamte Anlage in der einen oder aber in der anderen Richtung in Anspruch genommen wird. Es muss ja in einem bestimmten Augenblicke die Muskeltätigkeit in Gang kommen, worauf erst der passive Mechanismus eingreift. Meist sind aber die aktiven Mechanismen nicht durch die Arbeit von *einem* Muskel bedingt, sondern von mehreren Muskeln, die zum Teil antagonistische Funktionen zu erfüllen haben. Am einleuchtendsten sind diese Verhältnisse bei den Klappen an der Atrio-

ventrikulargrenze, hauptsächlich bei den höheren Wirbeltieren und beim Menschen. Die Erregungs- und Kontraktionswelle nimmt vom Sinusknoten ihren Ausgang; sie ergreift nacheinander den rechten und linken Vorhof und springt auf den *Aschoff-Tawaraschen Knoten* über. Sie erfasst aber jetzt nicht etwa die Basis der Kammern, sie gleitet vielmehr in der Scheidewand der Vorhöfe bzw. Kammern im sogenannten Reizleitungssystem abwärts, geht dann auf die Papillarmuskeln und im Anschluss daran auf den Spitzen-, zuletzt auf den Basisteil der Herzkammer über. Für den Abschluss des Vorhofes gegenüber der Kammer sind aber nicht nur die Segel von Bedeutung, die durch die Papillarmuskeln betätigt werden; es spielt hier auch die Basismuskulatur eine wichtige Rolle, weil sie den Eingang zu der Kammer von seiten des Vorhofs verengt. Die Aufeinanderfolge der Bewegungen bei normaler Betätigung des Herzens lässt sich kennzeichnen: Eingreifen der Papillarmuskeln, Tätigkeit der Spitzen- und zuletzt der Basismuskulatur. Durch die Papillarmuskeln werden die Segel gestellt, durch die Tätigkeit der Basis- und Spitzenmuskulatur wird das Blut in der Kammer unter hohen Druck gesetzt. Dadurch werden die Segel einander genähert. Durch das Eingreifen der Basismuskulatur wird gleichzeitig eine Verengung des Atrioventrikularrings erreicht, der die Abdichtung der Klappe sichert.

Wird nun der gesamte Mechanismus in entgegengesetzter Richtung «mobilisiert», so zieht sich zuerst die Basis der Kammer zusammen; es folgt die Spitze nach, und zuletzt kommt es durch die Papillarmuskeln zu einer Stellung der Segel. Man kann demgemäss annehmen, dass bei einer rückläufigen Tätigkeit des Herzens wenigstens anfänglich Blut aus den Kammern nach den Vorhöfen zu getrieben wird. Die Blutströmung wird aber in dem Augenblicke unterbrochen, wo es zu einer Stellung der Segel kommt; dann prallen diese aufeinander, und die Kammer führt eine Selbstabsperrung herbei. Es wird demgemäss nur ein kleiner Teil des in den Kammern angesammelten Blutes zum rückläufigen Bewegung des Blutes kann unter diesen Bedingungen nicht zustande kommen.

Gewiss sind die hier vorliegenden Verhältnisse weder bei der recht- noch bei der rückläufigen Tätigkeit des Herzens ausreichend bekannt. Immerhin lässt es sich ganz allgemein für sämtliche Klappen, bei deren Betätigung aktive und passive Mechanismen ineinandergreifen, sagen, dass die rückläufige Arbeitsweise des Herzens infolge der Asymmetrie der Anlage und der Aufeinanderfolge der Leistungen eine Umkehr der Strömungsrichtung kaum möglich macht. Wir befinden uns allerdings auf einem Gebiet, auf dem noch viel Arbeit geleistet werden muss, bevor völlige Klarheit herrscht.

c) Hier ist noch der Wirkungsweise der *Knorpel* bzw. *Knochen* zu gedenken, welche in manchen Säugetier-, auch Menschenherzen in der Umgebung der Wurzel

<sup>1</sup> E. BRÜCKE, Denkschr. k. Akad. Wiss., math.-naturwiss. Klasse 3, Wien (1852).



der Aorta eingebaut sind<sup>1</sup>. Diese Gebilde weisen vielfach die Form eines nicht geschlossenen Ringes auf, der auf der einen Seite einen breiten Ansatz trägt und überall mit Muskeln in Verbindung tritt. Er setzt sich zumeist aus zwei Anteilen zusammen, aus Halbringen ungleicher Grösse, die untereinander sehnig verbunden sind. Das bedeutet, dass hier eine elastische Federung möglich ist. Es wäre verfehlt, zu glauben, dass es sich bei dieser Einrichtung um einen rein passiven Mechanismus handelt. Die Tatsache, dass Muskeln hier ansetzen, spricht schon dafür, dass der gesamte Ring zu bewegen ist und dass seine Teile gegeneinander verstellt werden können. Für gewöhnlich ist die Aufgabe dieses knorplig knöchigen Gebildes in dem Freihalten des Ausganges zur Aorta zu erblicken. Da diese Einrichtung nicht *symmetrisch* angelegt ist, so wird sie sich in verschiedener Weise auswirken, je nachdem das Blut aus der Kammer in die Aorta oder umgekehrt aus der Aorta in die Kammer strömen soll. Doch ist über ihre Funktion zur Zeit noch viel zu wenig bekannt, als dass man sich genauere Vorstellungen von ihrem Eingreifen unter den genannten Bedingungen machen könnte.

2. Es wurde bereits darauf hingewiesen, dass es neben den Mechanismen, die einen periodischen Abschluss von Herz- bzw. Gefässanteilen herbeiführen, auch solche gibt, die eine länger dauernde Abriegelung eines Gefässgebietes herbeiführen. Von derartigen Einrichtungen wurde schon an anderer Stelle gesprochen. Hier muss nochmals die Rede darauf gebracht werden, da solche Mechanismen vielfach eine Kombination aktiver und passiver Natur darstellen. Hier ist auf einen merkwürdigen Fall hinzuweisen, der bei *Würmern* gegeben ist.

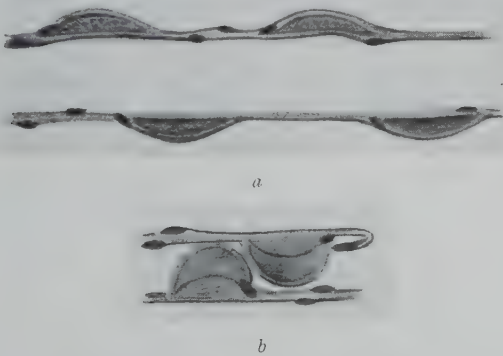


Abb.12. Klappenzellen von *Sticlostemma graecense*. Nach BOEHMIG, Z. w. Zool. 64, 479 (1898). a Diastole; b Systole.

Nach den Erfahrungen von BOEHMIG<sup>2</sup> ist die Wandung der Blutgefässe von *Sticlostemma graecense* in eigenartiger Weise zusammengesetzt. Sie besteht aus Endothel, in das Muskelfasern eingebaut sind, die eine Anordnung zum Teil in der Längsrichtung, zum Teil in zirkulärer Form aufweisen. Daneben gibt es aber auch noch eigene Zellen, die für gewöhnlich halbmondförmig gestaltet sind und die bei der Zusammenziehung der Muskelfasern Bewegungen in das Innere des Ge-

fässes durchführen. Sind die Muskeln erschlafft, so liegen diese Zellen scheinbar aussen der Gefässwand auf; ziehen sich die Muskelfasern zusammen, so werden sie in das Lumen des Gefässes hineingedrängt. Diese Klappenzellen, wie sie bezeichnet wurden, verändern infolge des Eingreifens zirkulärer Muskelfasern an der Basis ihre Form. Sie verkürzen sich in der Längs- und erweitern sich in der dazu senkrechten Richtung. Diese Zellen lösen sich in eigenartiger Weise in der Gefässwandung ab, wie aus der Abbildung 12 hervorgeht. Man kann von einer spiralförmigen Anordnung sprechen, indem die Klappenzellen der einen Seite einfach der glatten Gefässwand gegenüberliegen. An die Klappenzone der einen Seite schliesst sich wieder freie Gefässwandung an, der auf der entgegengesetzten Seite eine andere Klappenzone gegenüberliegt.

Wenn sich nun die Muskulatur zusammenzieht und die Klappenzellen dadurch eine Formveränderung erfahren, so kommt es zu einem völligen Abschluss des Gefässes. Die Muskelzellen in der Gefässwand verengen das Lumen; völlig abgedichtet wird es aber erst dadurch, dass die Klappenzellen vorspringen und sich wechselseitig verzapfen. Ein Rückstrom des Blutes nach der «falschen» Richtung ist nun nicht mehr möglich. An und für sich macht es den Eindruck, als ob eine Klappenzone ausreichen müsste, um den Abschluss des Gefässes zu gewährleisten. Die Abdichtung wird aber erst durch die Verzinkung der Klappenzellen vollständig gemacht. Darin haben wir wieder einen Ausdruck für das *Prinzip der Sicherungen* zu erblicken. Reicht die eine Klappenzone nicht aus, so ist noch eine zweite da, die gewissermassen die Abdichtung des verengten Gefässes sichert. Der *aktive* Mechanismus ist in diesem Falle in den Muskelzellen, der *passive* in den Klappenzellen zu erblicken. Man beachte den tiefgreifenden Unterschied zwischen dem Einbau von Klappen in ein Gefäss und der Funktion der Klappenzellen. Diese sind nicht schon von vornherein Ventile, sondern sie werden erst zu einem Ventil durch Betätigung von Muskeln.

Es empfiehlt sich, auf die Analogie hinzuweisen, die zwischen den Klappenzellen und den Rougetschen Zellen in den Kapillaren besteht. Wenn sich nämlich die Rougetschen Zellen zusammenziehen, so verkürzen sie sich in der Längsrichtung, sie erweitern sich aber gleichzeitig in der dazu senkrechten Richtung. Die Analogie wird dadurch vollständig, dass die Rougetschen Zellen spiralförmig in der Gefässwand angeordnet sind, wie dies auch bei den Klappenzellen der Fall zu sein scheint. Ferner sind die Rougetschen Zellen genau so wie die Klappenzellen nicht kontinuierlich in der Gefässwand angeordnet, sondern diskontinuierlich.

III. Überblick

Die Regelung der Strömungsrichtung des Blutes in einem Kreislaufsystem beruht, wie unsere Ausführungen lehren, auf dem Eingreifen einer ganzen Anzahl von Faktoren. Diese lassen sich ohne Zwang in *aktive* auf der einen und *passive* auf der anderen Seite sondern.

<sup>1</sup> M. MILNE EDWARDS, *Leçons sur la physiologie et l'anatomie comparée*, Bd. 4 (V. [G.] Masson, Paris 1859), S. 37.  
<sup>2</sup> L. BOEHMIG, Z. wiss. Zool. 64, 479 ff. (1898).



Dazu kommen noch Einrichtungen, die sowohl aktiver als auch passiver Natur sind. Wenn von einem aktiven Mechanismus gesprochen wird, so handelt es sich um das Vorhandensein und das Eingreifen von Muskelfasern. Einen derartigen Mechanismus finden wir in reiner Form im Gefäßsystem der *Würmer*, in einem gewissen Umfang auch im Herzen der *Manteltiere*. Hier wird das Blut nur durch das Eingreifen von Muskelzellen in einer bestimmten Richtung vorangetrieben, die allerdings wechseln kann<sup>1</sup>.

Ist der Herzschnlauch durch die Anlage von Automatiezentren differenziert, so ist ein bestimmter Ablauf der Erregungswelle bereits festgelegt, mit dem im allgemeinen die Strömungsrichtung des Blutes gleichsinnig gekoppelt ist. Die Lagerung der führenden Zentren am *Eingang* zu jeder Herzabteilung erweist sich dann für einen Rückstrom des Blutes als sehr ungünstig.

Die *passiven* Mechanismen erstrecken sich auf die Anlage der Gefässe und der Herzen, die bereits eine Unterteilung in verschiedene Abschnitte aufweisen, weiter auf jene Klappeneinrichtungen, die wir in den Venen bzw. im Anfangsteil der grossen arteriellen Gefässe vom Vogel- einschliesslich bis zum Menschenherzen finden. Gleichartig wirkt sich jenes physikalische Geschehen aus, das bei strömenden Flüssigkeiten zu verzeichnen ist und als Prinzip der *Wasserstrahlpumpe* bezeichnet wird.

Von grösster Bedeutung für die Regelung der Blutströmung ist aber die Kombination von aktiven und passiven Faktoren. Wir treffen sie bei der wechselseitigen Einwirkung benachbarter Herzabteilungen an, ferner bei der Betätigung der meisten Klappen, gleichgültig, ob es sich dabei um Kugelventile bzw. um jene handelt, die mit dem Namen Sichel-, Segel-, Taschen- und Spiralklappen angesprochen werden. Hier ist überall eine Asymmetrie des Baues und der Aufeinanderfolge der Leistung gegeben. Dasselbe gilt für den Fall, dass *Knorpel* bzw. *Knochen* an der Wurzel der Aorta in das Herz eingebaut sind.

Einer eigenen Hervorhebung bedarf die Tatsache, dass die Blutströmung durch das Eingreifen aktiver bzw. kombinierter Mechanismen periodisch verhindert, dass sie aber auch für längere Zeit abgesperrt werden kann. Das letztere Geschehen spielt bei der Blutverteilung im Organismus eine wichtige Rolle.

Unsere Betrachtungen lehren, dass man innerhalb der Tierreihe *zwei* Arten von Kreislaufsystemen sondern kann, einmal solche, bei denen der Umlauf des Blutes scheinbar völlig gleichartig in beiden Richtungen zu bewerkstelligen ist, sodann solche, bei denen er, wenn auch nicht ständig, so doch vorzugsweise in einer Richtung erfolgt. Im letzteren Falle müssen alle diejenigen Faktoren eingreifen, die die Strömungsrichtung regeln. Es erfolgt dies auf einem um so verwickelteren Wege, je höher die betreffende Art in der Tierreihe steht. Nur wenn man die entsprechenden Einrich-

tungen und Vorgänge innerhalb der gesamten Tierreihe überblickt, kann man diese Tatsache richtig bewerten.

Es ist nicht unwichtig, zu bemerken, dass alle Mechanismen zur Regelung der Blutströmung in einer bestimmten Richtung nur dann einwandfrei arbeiten, wenn durch sie wirklich eine Asymmetrie des *Widerstandes* geschaffen wird. Dann ist der Durchgang des Blutes in der einen Richtung möglich, in der anderen undurchführbar. Präzisionsmechanismen im strengen Sinne des Wortes gibt es allerdings in der Natur nicht. Es kann also niemals völlig vermieden werden, dass es bei Betätigung dieser Einrichtungen zu einem Rückstrom von Blut kommt; nur ist dieser für gewöhnlich und unter normalen Verhältnissen sehr klein.

Die Beantwortung der Frage nach der Regelung der Strömungsrichtung in einem Kreislaufsystem lehrte uns eine grosse Anzahl wichtiger Einzeltatsachen kennen. Auf dieser Grundlage lassen sich nunmehr folgende *allgemeinen Gesetze* aufstellen:

Ist ein Kreislaufsystem in bezug auf den Bau und die Leistung des Motors, ferner in bezug auf die Beschaffenheit der Peripherie, vorzugsweise deren Widerstand, *symmetrisch* gestaltet, so kann darin der Umlauf des Blutes in beiden Richtungen vor sich gehen. Dies ist bei verschiedenen *Würmern* und bei den *Manteltieren* der Fall. Liegt dagegen eine *Asymmetrie* in der Anlage vor, sei es in bezug auf den Bau und die Leistung des Motors, sei es in bezug auf die Beschaffenheit der Peripherie, so wird die Strömung bevorzugt in *einer* Richtung vor sich gehen. Je höher wir in der Tierreihe aufsteigen, um so mehr stossen wir auf Asymmetrien der Anlage und der Funktion. So ist es zu erklären, dass der Umlauf des Blutes im Kreislaufsystem der meisten *Wirbeltiere* und auch des *Menschen* unter normalen Verhältnissen nur in einer Richtung vor sich geht. Es ist dies hervorzuheben, da der Ablauf der Erregung im Herzen an und für sich in beiden Richtungen möglich ist.

#### Summary

Within the animal kingdom, two kinds of circulatory systems can be distinguished: those in which the circulation of the blood is seemingly congeneric in both directions, and those in which it flows, if not constantly at least chiefly, in one direction. In the latter case, all those factors must influence it which regulate the direction of the flow. They may be divided into active and passive factors. The active factors are the intervention of muscle fibres, while the passive factors are the arrangement of the heart as regards fore- and afterportions as well as the formation of the valves. By the interference of active or combined mechanisms the blood may be periodically hindered from circulating, sometimes even stopped for a longer period, a process which is of the utmost importance for the distribution of the blood in the organism. The higher the species ranks in the animal kingdom, the more complicated are the ways in which this can take place.

From these facts, a general law can be established: if a circulatory system is built symmetrically, the circulation of blood in it can go in both directions, as is the case with various worms and tunicata. In the case of asymmetry in the arrangement, the flow will be especially in one direction.

<sup>1</sup> E. v. SKRAMLIK, Jenaische Z. Med. Naturwiss. 77, 116 (1944).



Brèves communications - Kurze Mitteilungen  
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

A Transformation of Solutions  
of Diffusion Equations Valid for Certain Initial  
and Boundary Conditions

Diffusivity problems, either with reference to a flux of material or a flux of heat, frequently arise in industrial, laboratory and biological systems. A full investigation of these must involve the formulation and solution of diffusion equations with the appropriate initial and boundary conditions. Unfortunately the mathematical problems involved are usually difficult, but this is counterbalanced by the fact that a large number of solutions of diffusion equations are present in the literature and in textbooks<sup>1</sup>. In the following, diffusion of a solute will be discussed, it being understood that only trivial modifications are required for the analogous conduction of heat problems.

Many mathematical solutions are available for those cases involving two adjacent regions occupied by two media, initially region 1 possessing a uniform concentration  $c'_0$  and region 2 possessing zero concentration of diffusing substance, diffusion subsequently occurring from region 1 to region 2. A resistance to the flux may or may not be present at the interface. The mathematical solutions, giving the concentration of diffusing substance at any place and time in this type of system may readily be transformed to give the solutions for more difficult problems, where initially the diffusing substance has zero concentration in both regions and is then produced in region 1 at a constant rate  $m$  (e.g. mole/cm<sup>3</sup>/s), simultaneously diffusing into region 2.

For the former systems the equations

$$\frac{\partial c'_1}{\partial t} = D_1 \nabla^2 c'_1 \text{ with } c'_1 = c'_0 \text{ at } t = 0, \tag{1}$$

$$\frac{\partial c'_2}{\partial t} = D_2 \nabla^2 c'_2 \text{ with } c'_2 = 0 \text{ at } t = 0, \tag{2}$$

apply to regions 1 and 2 respectively.

Now consider the transformations

$$c_1 = \frac{m}{c'_0} \int_0^t c'_1 dt \text{ and } c_2 = \frac{m}{c'_0} \int_0^t c'_2 dt.$$

Differentiating  $c_1$  gives

$$\frac{\partial c_1}{\partial t} = \frac{m}{c'_0} \frac{\partial}{\partial t} \int_0^t c'_1 dt = \frac{m c'_1}{c'_0} \tag{3}$$

and

$$D_1 \nabla^2 c_1 = \frac{m}{c'_0} D_1 \nabla^2 \int_0^t c'_1 dt = \frac{m}{c'_0} \int_0^t D_1 \nabla^2 c'_1 dt.$$

Substituting for  $D_1 \nabla^2 c'_1$  from (1) results in

<sup>1</sup> E.g. CARSLAW and JAEGER, *Conduction of Heat in Solids* (Oxford Univ. Press, 1947).

$$D_1 \nabla^2 c_1 = \frac{m}{c'_0} \int_0^t \frac{\partial c'_1}{\partial t} dt = \frac{m}{c'_0} (c'_1 - c'_0)$$

and substituting for  $mc'_1/c'_0$  from (3) gives

$$D_1 \nabla^2 c_1 = \frac{\partial c_1}{\partial t} - m.$$

Applying the same procedure to  $c_2$  shows that

$$D_2 \nabla^2 c_2 = \frac{\partial c_2}{\partial t}.$$

Thus if  $c'_1$  and  $c'_2$  are solutions of (1) and (2) then  $c_1$  and  $c_2$  are solutions of

$$\frac{\partial c_1}{\partial t} = D_1 \nabla^2 c_1 + m$$

and

$$\frac{\partial c_2}{\partial t} = D_2 \nabla^2 c_2.$$

These solutions will only apply for certain initial and boundary conditions.

As at zero time  $c'_1 = c'_0$  and  $c'_2 = 0$ , then

$$c_1 = \frac{m}{c'_0} \int_0^t c'_1 dt = 0$$

and similarly  $c_2 = 0$ . Thus  $c_1$  and  $c_2$  obey the conditions  $c_1 = 0$  and  $c_2 = 0$  at  $t = 0$ .

For the boundary conditions, consider first the interface between the two regions. If at this interface  $c'_1 = \alpha c'_2$  then it is easily seen that  $c_1 = \alpha c_2$ , where  $\alpha$  is the partition coefficient of the diffusing substance between the two media. Also if  $D_1 \partial c'_1 / \partial n = D_2 \partial c'_2 / \partial n$  at the interface,  $n$  being the normal to the boundary surface, then

$$D_1 \frac{\partial c_1}{\partial n} = \frac{m}{c'_0} \int_0^t D_1 \frac{\partial c'_1}{\partial n} dt = \frac{m}{c'_0} \int_0^t D_2 \frac{\partial c'_2}{\partial n} dt = D_2 \frac{\partial c_2}{\partial n}.$$

Thus  $c_1$  and  $c_2$  will satisfy  $D_1 \partial c_1 / \partial n = D_2 \partial c_2 / \partial n$  at this boundary. Alternatively if the interfacial boundary condition satisfied by  $c'_1$  and  $c'_2$  is

$$D_1 \partial c'_1 / \partial n = D_2 \partial c'_2 / \partial n = P (\alpha c'_2 - c'_1),$$

corresponding to the existence of a membrane of permeability  $P$  at the interface, then  $D_1 \partial c_1 / \partial n = D_2 \partial c_2 / \partial n = P (\alpha c_2 - c_1)$  forms the condition satisfied by  $c_1$  and  $c_2$ , for

$$D_1 \frac{\partial c_1}{\partial n} = D_2 \frac{\partial c_2}{\partial n} = \frac{m}{c'_0} \int_0^t D_2 \frac{\partial c'_2}{\partial n} dt = \frac{m}{c'_0} \int_0^t P (\alpha c'_2 - c'_1) dt$$
  
$$= P \left[ \alpha \frac{m}{c'_0} \int_0^t c'_2 dt - \frac{m}{c'_0} \int_0^t c'_1 dt \right] = P (\alpha c_2 - c_1).$$



It only remains to consider the conditions at the "outer" boundaries of the regions. The term "outer" boundary includes mathematical boundaries, e.g. at infinity, or the central point of a spherical region, or the axis of a cylindrical region. Let  $\mathbf{r}$  and  $\mathbf{r}_0$  be the radius vectors of general points within and on the "outer" boundaries of the system respectively. Then, either with reference to region 1 or region 2, i.e. to  $c_1$  or  $c_2$ , if  $c'$  is finite when  $\mathbf{r} \rightarrow \mathbf{r}_0$ , then

$$c = \frac{m}{c'_0} \int_0^t c' dt$$

will also be finite as  $\mathbf{r} \rightarrow \mathbf{r}_0$ . Alternatively if  $\partial c'/\partial n \rightarrow 0$  as  $\mathbf{r} \rightarrow \mathbf{r}_0$  then

$$\frac{\partial c}{\partial n} = \frac{m}{c'_0} \int_0^t \frac{\partial c'}{\partial n} dt \rightarrow 0 \quad \text{as } \mathbf{r} \rightarrow \mathbf{r}_0,$$

$n$  being the normal to the "outer" boundary.

Finally an illustration is given of the application of this transformation to linear diffusion in the normal direction across a plane interface. Consider the diffusing substance possessing the original concentration  $c'_0$  in region 1 ( $0 < x < l$ ) and zero in region 2 ( $x > l$ ) and then undergoing diffusion into region 2. The differential equations

$$\begin{aligned} \frac{\partial c'_1}{\partial t} &= D_1 \frac{\partial^2 c'_0}{\partial x^2} \quad \text{for } 0 < x < l, \\ \frac{\partial c'_2}{\partial t} &= D_2 \frac{\partial^2 c'_2}{\partial x^2} \quad \text{for } x > l \end{aligned}$$

apply, with initial conditions

$$c'_1 = c'_0, \quad c'_2 = 0 \quad \text{at } t = 0,$$

and boundary conditions

$$\begin{aligned} \partial c'_1 / \partial x &= 0 \quad \text{at } x = 0, \\ c'_1 &= \alpha c'_2, \quad D_1 \partial c'_1 / \partial x = D_2 \partial c'_2 / \partial x \quad \text{at } x = l, \\ c'_2 &\text{ finite as } x \rightarrow \infty. \end{aligned}$$

The solutions are

$$\begin{aligned} c'_1 &= \frac{2}{\pi} c'_0 \alpha v \int_0^\infty \frac{\exp(-D_1 t u^2) \cdot \sin l u \cdot \cos x u \cdot du}{u (\cos^2 l u + \alpha^2 v^2 \sin^2 l u)} \\ c'_2 &= \frac{2}{\pi} c'_0 v \int_0^\infty \frac{\exp(-D_1 t u^2) \cdot \sin l u \cdot f(u) \cdot du}{u} \end{aligned}$$

where

$$f(u) = \frac{[\cos l u \cdot \cos \{(x-l) v u\} - \alpha v \sin l u \cdot \sin \{(x-l) v u\}]}{(\cos^2 l u + \alpha^2 v^2 \sin^2 l u)}$$

and  $v = (D_1/D_2)^{1/2}$ .

Application of the transformations gives

$$\begin{aligned} c_1 &= \frac{2 m \alpha v}{\pi D_1} \int_0^\infty \frac{\{1 - \exp(-D_1 t u^2)\} \cdot \sin l u \cdot \cos x u \cdot du}{u^3 (\cos^2 l u + \alpha^2 v^2 \sin^2 l u)} \\ c_2 &= \frac{2 m v}{\pi D_1} \int_0^\infty \frac{\{1 - \exp(-D_1 t u^2)\} \cdot \sin l u \cdot f(u) \cdot du}{u^3}, \end{aligned}$$

which form the solutions to the problem in which the

diffusing substance is absent initially in both regions and is then produced uniformly throughout region 1 at rate  $m$  and diffuses into region 2. The functions  $c_1$  and  $c_2$  form the solutions of the differential equations.

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_1}{\partial t} &= D_1 \frac{\partial^2 c_1}{\partial x^2} + m \quad \text{for } 0 < x < l, \\ \frac{\partial c_2}{\partial t} &= D_2 \frac{\partial^2 c_2}{\partial x^2} \quad \text{for } x > l, \end{aligned}$$

with initial conditions  $c_1 = 0, c_2 = 0$  at  $t = 0$ , and boundary conditions for  $c_1$  and  $c_2$  which are identical with those for  $c'_1$  and  $c'_2$ .

D. G. O'SULLIVAN

*Courtauld Institute of Biochemistry, The Middlesex Hospital Medical School, London, W. 1, April 2, 1954.*

### Zusammenfassung

Eine grosse Anzahl von Auflösungen für mathematische Gleichungen, die sich mit der Diffusion einer Substanz von einem Raum (Raum 1), in dem sie ursprünglich in einheitlicher Konzentration vorhanden sind, in einen anderen Raum (Raum 2) befassen, sind allgemein zugänglich. Es wird eine Methode beschrieben, die Auflösungen dieser Art in solche umwandelt, die sich unter der Bedingung verwenden lassen, dass die diffundierende Substanz ursprünglich abwesend ist, später jedoch mit konstanter Geschwindigkeit (in Raum 1) produziert wird. Eine solche Methode der Umwandlung ist für eine Anzahl von Grenzschichtbedingungen (boundary conditions) anwendbar.

### Isolation of Crystalline Aldosterone from the Urine of a Nephrotic Patient

Since 1950 one of the present authors (J.A.L.) and his collaborators have demonstrated the occurrence of a strongly sodium-retaining corticoid fraction in the urine of normal humans and especially of oedematous patients with nephrosis or congestive heart failure<sup>1</sup>. The active material, originally measured by bio-assay<sup>2</sup>, was shown to move in ZAFFARONI's paper-chromatographic system with cortisone<sup>3</sup>, behaving thus and in other respects<sup>4</sup> like the highly active mineralocorticoid from adrenal cortical extracts of SIMPSON and TAIT<sup>5</sup>. Similar activity in urine fractions of such patients has been observed by SINGER *et al.*<sup>6</sup>, and recently by COPE *et al.*<sup>7</sup> who also

<sup>1</sup> Q. B. DEMING and J. A. LUETSCHER, Jr., *Proc. Exper. Biol. Med.* **73**, 171 (1950). – J. A. LUETSCHER, Jr., Q. B. DEMING, and B. B. JOHNSON, *Ciba Found. Colloq. Endocrinol.* **4**, 530 (1952). – J. A. LUETSCHER, Jr., and B. J. AXELRAD, *J. Clin. Endocrinol.* **14**, 1086 (1954).

<sup>2</sup> Q. B. DEMING and J. A. LUETSCHER, Jr., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* **73**, 171 (1950). – J. A. LUETSCHER, Jr., and Q. B. DEMING, *Transactions 2nd Conf. Renal Function*, J. Macy Jr. Found., 155 (1951), New York. – B. B. JOHNSON, *Endocrinol.* **54**, 196 (1954).

<sup>3</sup> J. A. LUETSCHER, Jr., and B. B. JOHNSON, *Amer. J. Med.* **15**, 417 (1953); *J. Clin. Invest.* **32**, 585 (1953). – J. A. LUETSCHER, Jr., and B. J. AXELRAD, *J. Clin. Endocrinol.* **14**, 1086 (1954).

<sup>4</sup> J. A. LUETSCHER, Jr., and B. B. JOHNSON, *J. Clin. Invest.* **33**, 276 (1954).

<sup>5</sup> S. A. SIMPSON and J. F. TAIT, *Endocrinol.* **50**, 150 (1952) and later publications.

<sup>6</sup> B. SINGER and E. H. VENNING, *Endocrinol.* **52**, 623 (1953). – B. SINGER and J. WENER, *Amer. Heart J.* **45**, 795 (1953). – M. F. MCCALL and B. SINGER, *J. Clin. Endocrinol.* **13**, 1157 (1953).

<sup>7</sup> C. L. COPE and J. GARCIA, *Brit. Med. J.* **1954**, 1290.



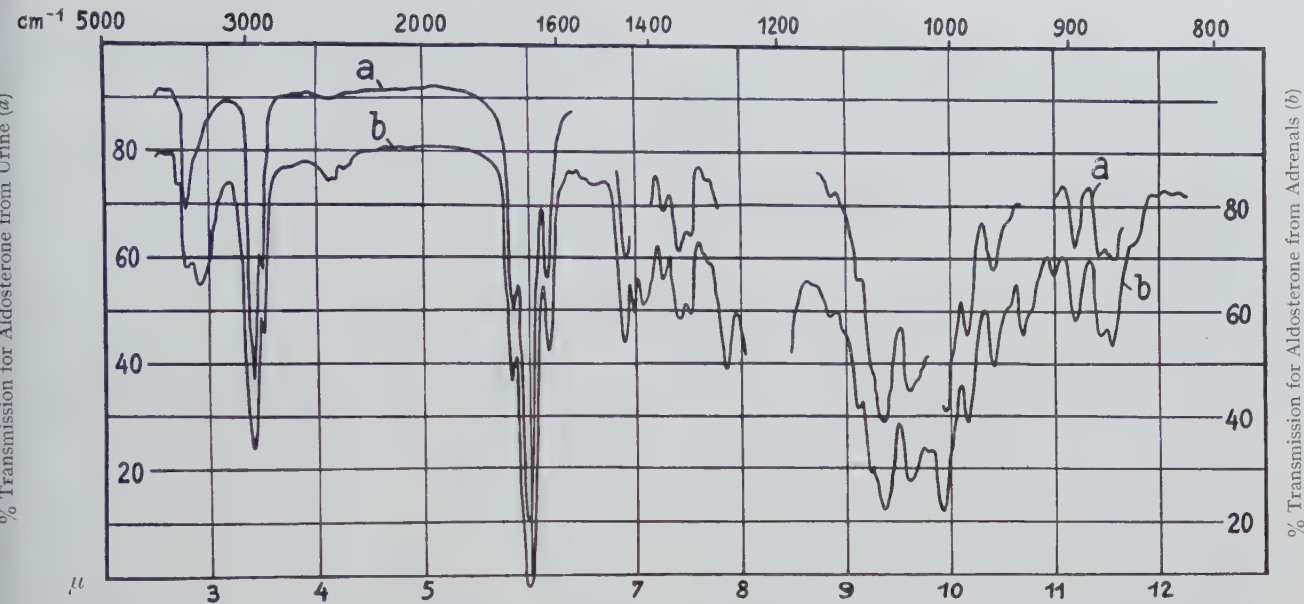


Fig. 1.—IR-Spectra of Aldosterone from Urine (a) and from Adrenals (b)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Determined in chloroform solution, compensated with pure solvent. Aldosterone from urine: ca. 0.02 molar, thickness 1.0 mm. Aldosterone from adrenals: 0.10 molar, thickness 0.216 mm. Spectra taken in a Perkin-Elmer-Spectrophotometer, Modell 21, with NaCl-prism; resolution 4, response 1/1, speed 2 min/μ, suppression 1.

emphasized the electrocortin-like properties of this agent. SINGER *et al.*, moreover, found an activity in the urine of patients with toxæmia of pregnancy, confirming thus the early findings of CHART *et al.*<sup>1</sup>. These authors later demonstrated the factor also in urine during cirrhosis of the liver with ascites<sup>2</sup>.

After the isolation of the hormone from adrenals in crystalline form<sup>3</sup> and the elucidation of its structure<sup>4</sup>, which suggested the name of aldosterone instead of electrocortin, the task was commenced by our groups of isolating the active substance from urine fractions with corresponding biological, physical and chemical properties. This work has now yielded pure aldosterone in crystalline form<sup>5</sup>, proving that the sodium-retaining substance in urine is identical with the most potent known adrenocortical hormone.

The starting material was a 13 days' collection of urine (14.5 l, with a very low content of sodium) of a 10-year-old male nephrotic with massive oedema, who had not previously been treated with steroids. This was extracted (J.A.L.)<sup>6</sup> after acidification with hydrochloric acid to pH 1.0 within 40 min with a rather small quantity (4 times 0.15 Vol) of chloroform. The extract

A, obtained in this way, upon washing with cold 0.1 n-sodium hydroxyde solution and water, drying (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporating in vacuo at 40°C yielded a biologically active product. In paper chromatograms with ZAFFARONI's<sup>1</sup> and BUSH's<sup>2</sup> systems it showed a characteristic spot, which, according to its mobility, UV-absorption, reduction of blue tetrazolium, and formation of mono- and diacetates contained aldosterone. This fraction moreover was oxidized with periodic acid and yielded crude lactone 874<sup>3</sup>. All these substances were detected by paper chromatography.

To isolate aldosterone itself, the acid urine after 24 hours' standing at 20°C was extracted again in a similar way with chloroform. This extract B contained much more biologically active material<sup>4</sup> and was paper-chromatographed in the ZAFFARONI system<sup>1</sup> with propylene glycol-toluol. The band with slightly faster running properties than cortisone was eluted with 95% ethanol, and this fraction again chromatographed on paper in BUSH's B2-system (toluene-light petroleum-methanol-water<sup>2</sup>). The biologically active band yielded, with 95% ethanol, an amorphous eluate (4.6 mg), containing, according to its UV-absorption, about 2–3 mg of α, β-unsaturated ketones.

For further purification (R.N. and A.W.) this material was dissolved in acetone and yielded 4.4 mg of solubles. Twice 100 γ of these were run for analysis in the BUSH C-system (toluene-ethyl acetate-methanol-water)<sup>2</sup> at 40°C. The main spot, consisting of about 40% of the extract and being characterised with UV-absorption,

<sup>1</sup> J. J. CHART, E. G. SHIPLEY, and E. S. GORDON, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 78, 244 (1951). — E. S. GORDON, J. J. CHART, D. HAGEDORN, and E. G. SHIPLEY, *Obstetr. and Gynecol.* 4, 39 (1954). — Compare also C. W. LLOYD *et al.*, *J. Clin. Invest.* 31, 1056 (1952).

<sup>2</sup> J. J. CHART and E. G. SHIPLEY, *J. Clin. Invest.* 32, 560 (1953); see also A. M. BONGIOVANNI and W. J. EISENMENGER, *J. Clin. Endocrinol.* 11, 152 (1951).

<sup>3</sup> S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, and T. REICHSTEIN, *Exper.* 9, 333 (1953); with O. SCHINDLER, *Helv. chim. Acta* 37, 1163 (1954).

<sup>4</sup> S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER, and T. REICHSTEIN, *Exper.* 10, 132 (1954); *Helv. chim. Acta* 37, 1200 (1954).

<sup>5</sup> Result preliminarily cited by A. WETTSTEIN and G. ANNER, *Exper.* 10, 401 (1954).

<sup>6</sup> The valuable collaboration of B. J. AXELRAD, A. DOWDY, J. HARVEY, and W. LEW is gratefully acknowledged.

<sup>1</sup> A. ZAFFARONI, R. B. BURTON and E. H. KEUTMANN, *Science* 111, 6 (1950). — R. B. BURTON, A. ZAFFARONI, and E. H. KEUTMANN, *J. Biol. Chem.* 188, 763 (1951).

<sup>2</sup> I. E. BUSH, *Biochem. J.* 50, 370 (1952).

<sup>3</sup> S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER, and T. REICHSTEIN, *Exper.* 10, 132 (1954); *Helv. chim. Acta* 37, 1200 (1954).

<sup>4</sup> The valuable collaboration of B. J. AXELRAD, A. DOWDY, J. HARVEY, and W. LEW is gratefully acknowledged.



blue tetrazolium, sodium hydroxide, phosphoric acid<sup>1</sup> and antimony trichloride, showed the same  $R_F$  value as aldosterone (and 17-hydroxy-corticosterone) and contained only minor impurities. This system was therefore used to purify 4.2 mg of the solubles preparatively on paper, the band corresponding to aldosterone being eluted with 20% methanol. The eluate was evaporated *in vacuo* and extracted 8 times with chloroform, yielding a residue of 3.4 mg. Upon solution in a little moist ether-acetone (3:1) and inoculation with aldosterone it crystallised at once. After 15 hours' standing at  $-10^\circ\text{C}$  we decanted the mother liquor and washed the crystals 3 times with ether-acetone (3:1). The preparation (1.0 mg) melted at  $100-110^\circ\text{C}$ , crystallised again partially upon further heating and melted finally at  $150-155^\circ\text{C}$ . Recrystallisation was carried out with a big loss from ether-acetone (2:1) with the purpose of obtaining the purest possible product. It yielded 0.35 mg of pure aldosterone which melted partially at  $110-115^\circ\text{C}$ , crystallised again totally upon further heating and melted finally at  $156-165^\circ\text{C}$ . The melting point of a mixture with authentic aldosterone showed no depression. The infrared spectrum in chloroform<sup>2</sup> was in conformity with that of aldosterone from beef adrenals<sup>3</sup> (compare Fig. 1, *a* and *b*). The broad band at  $2.85-3.05\mu$ , shown only in the latter, is due to the extensive hydrogen bonding, occurring only in high concentration<sup>3</sup>, this being in the case of the aldosterone from adrenals about 5 times higher than in the case of the aldosterone from urine.

The mother liquor of the first crystallisate contained, according to paperchromatographic determination, a further 0.9 mg of aldosterone. Extract *B*, therefore, contained a total of  $1.9 \pm 0.2$  mg aldosterone and the entire 13 days' urine probably towards 3 mg of aldosterone. The high content, together with the comparatively simple isolation process in this case, makes the urine of nephrotic patients a very suitable starting material for the extractive preparation of aldosterone. The physiological significance of the high aldosterone excretion in certain diseases has still to be established.

A detailed report will appear elsewhere.

J. A. LUETSCHER, Jr., R. NEHER,  
and A. WETTSTEIN

Stanford University School of Medicine, San Francisco, California;

Research Laboratories of Ciba Ltd., Basle, Switzerland,  
October 1, 1954.

### Zusammenfassung

Es ist erstmals gelungen, Aldosteron aus menschlichem Urin zu isolieren. Eine Fraktion des 13-Tage-Harnes von einem Knaben mit Nephrose und massiven Ödemen ergab 1,0 mg dieses biologisch hochaktiven Hormons in kristallisierter Form. Da der Gesamtgehalt gegen 3 mg betrug, stellt solcher Harn ein geeignetes Ausgangsmaterial dar zur extraktiven Gewinnung von Aldosteron. Letzteres erwies sich in seinen Eigenschaften als identisch mit Aldosteron aus Rinder-Nebennieren.

<sup>1</sup> R. NEHER and A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **34**, 2278 (1951).

<sup>2</sup> Our best thanks are due to Dr. E. GANZ, Basle, for these determinations.

<sup>3</sup> S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER, and T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **37**, 1173-1176 (1954).

## Neue Synthesen des Chloramphenicols und deren stereochemischen Beziehungen

Wir haben zwei neue Synthesen des Chloramphenicols (I) ausgearbeitet. Diese Synthesen geben auch bestimmte Aufklärung über stereochemische Zusammenhänge in der Reihe der  $\beta$ -Phenylserinäther und über den «Neighboring group effect»<sup>1</sup>.

Vom Diastereoisomeren des  $\beta$ -Phenylserin-O-methyläthers (II) mit dem niedrigeren Schmelzpunkte ausgehend (Darstellung durch Ammonolyse von 2-Phenyl-2-methoxy-1-brompropionsäure Smp.  $140^\circ$ <sup>2</sup>), wurde die threo-Modifikation des  $\beta$ -Phenylserinolmethyläthers (III), (Smp. des N-p-Nitrobenzoats:  $179-181^\circ$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2$ : berechnet C 61,85, H 5,49, N 8,48; gefunden C 61,95, H 5,63, N 8,50) auf zwei Wegen hergestellt: erstens wurde der Äthylester von (II) mit  $\text{LiAlH}_4$  reduziert, zweitens wurde das Säurechlorid der Phthalylverbindung von (II) nach ROSENMUND zum 2-Phenyl-2-methoxy-1-phthalimino-propionaldehyd reduziert, dann mit Aluminiumisopropylat reduziert und mit Hydrazin dephthalyliert. Das O-N-Diazetat von (III) wurde nitriert und desazetyliert; die entstandene Base (IIIa, Smp.:  $82-84^\circ$ ,  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{N}_2$ : ber. C 53,09, H 6,20; gefunden C 53,04, H 6,22) gab nach Demethylierung das threo-1-(p-Nitrophenyl)2-amino-1,3-dioxypropan. (IIIa) wurde mit Weinsäure oder Dibenzoylweinsäure in die optischen Antipoden gespalten. Das linksdrehende Isomere von (IIIa) (Smp.:  $105-107^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{25} -74^\circ$ , C = 1% in n-Salzsäure) konnte zu einer Verbindung demethyliert werden, die mit der Base – entstehend bei der Hydrolyse des natürlichen Chloramphenicols (Ia) – in jeder Hinsicht identisch war. (Ia) gab mit Pentachlorazeton in ausgezeichneter Ausbeute Chloramphenicol.

Das Diastereoisomere des  $\beta$ -Phenylserin-methyläthers (IV) (mit dem höheren Schmelzpunkt; darstellbar durch Ammonolyse der 2-Phenyl-2-methoxy-1-brompropionsäure vom Smp.:  $180^\circ$  (III), welche sich in quantitativer Ausbeute aus trans-Zimtsäure in methylalkoholischer Lösung durch die Einwirkung von Brom und gelbem Bleioxyd bildet<sup>3</sup>), konnte mit denselben Methoden reduziert werden: Es entstand so der erythro- $\beta$ -Phenylserinol-methyläther (V) (Smp. des N-p-Nitrobenzoats  $163-164^\circ$ ;  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2$ : berechnet N 8,48; gefunden N 8,26), welcher wie oben in die p-Nitroverbindung übergeführt werden konnte (Va) (Smp.:  $110-111^\circ$ ,  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{N}_2$ : berechnet C 53,09, H 6,20, N 12,40; gefunden C 52,87, H 6,22, N 12,36). Interessanterweise bildete sich beim Demethylieren von (V) mit wässriger Bromwasserstoffsäure neben erythro- $\beta$ -Phenylserinol in erheblicher Menge auch threo- $\beta$ -Phenylserinol. Um diese Erscheinung zu erklären, unterwarfen wir erythro- $\beta$ -Phenylserinol den Demethylierungsbedingungen (Kochen mit wässriger Bromwasserstoffsäure); wir bekamen so in guter Ausbeute das threo-Isomere (das erythro-oder threo- $\beta$ -p-Nitrophenylserinol und das threo- $\beta$ -

<sup>1</sup> S. WINSTEIN und R. E. BUCKLES, *J. Amer. Chem. Soc.* **64**, 2780 (1942). – E. ABDERHALDEN und W. ZEISSET, *Z. Physiol. Chem.* **200**, 179 (1931).

<sup>2</sup> H. E. CARTER und E. VAN LOON, *J. Amer. Chem. Soc.* **59**, 2555 (1937); **60**, 1079 (1938).

<sup>3</sup> Die oben erwähnte neue Methode wurde mit gutem Erfolg zur Addition der Elemente der Alkylhypobromite bei anderen ungesättigten Verbindungen gebraucht. So zum Beispiel bei ungesättigten Alkoholen (Zimtalkohol), bei ungesättigten Aldehyden und Ketonen (Zimtaldehyd, Benzalazeton), bei ungesättigten Säuren (2,2-Dimethylacrylsäure); die Ausbeuten erreichten in jedem Falle 90%. Die Methode ist auch brauchbar zur Herstellung von Äthoxy-Bromverbindungen, aber hier kann man gute Ausbeuten nur durch Zugabe katalytischer Mengen Wassers erreichen.



das 1-Phenyl-2-brom-1, 3-dimethoxypropan (VI); dieses wurde durch Ammonolyse in  $\beta$ -Phenylserinol-dimethyläther (VII, Smp. des N-p-Nitrobenzoats 129–130°;  $C_{18}H_{20}O_5N_2$ : berechnet N 8,13; gefunden N 8,00) übergeführt. Das N-Azetat von (VII) war identisch mit der Verbindung hergestellt aus threo- $\beta$ -Phenylserinol-N-Azetat durch Methylierung mit Jodmethyl und Silberoxyd. Auf diese Weise war seine Konfiguration bewiesen. Das N-Azetat von (VII) (Smp.: 97–98°,  $C_{13}H_{19}O_3N$ : berechnet C 65,82, H 8,02, N 5,91; gefunden C 65,82, H 8,25, N 5,91) wurde nitiert (Smp.: 129–130°,  $C_{13}H_{18}O_3N_2$ : berechnet C 55,32, H 6,38, N 9,93; gefunden C 55,29, H 6,66, N 9,94), desazetyliert und demethyliert: es bildet sich threo- $\beta$ -p-Nitrophenylserinol.

Aus den obigen Resultaten geht hervor, dass die Ammonolyse der 2-Phenyl-2-methoxy-1-brompropionsäure (VIII) und des 1-Phenyl-2-brom-1,3-dimethoxypropane (VI) zu solchen Aminoderivaten führt, welche im Verhältnisse der Diastereoisomerie zueinander stehen. Aber (VIII) und (VI) haben wahrscheinlich die gleiche Konfiguration, da wir diese Verbindungen durch Addition der Elemente des Methylhypobromits (Reaktion mit Brom und Methylalkohol in Gegenwart von gelbem Bleioxyd) an die Doppelbindung der trans-Zimtsäure bzw. des trans-Zimtalkohols erhielten. Dieser scheinbare Widerspruch kann mit dem bei der Ammonolyse von (VIII) annehmbaren «Neighboring group effect» erläutert werden. Dieser bewirkt, dass bei der Ammonolyse von (VIII) keine Konfigurationsänderung eintritt; bei der Ammonolyse von (VI) tritt dieser Effekt nicht stark genug in Erscheinung, um den normalen – mit Inversion ablaufenden – Gang der Reaktion von Typus  $S_N2$  zu beeinflussen.

Nach den Untersuchungen von Fodor und Mitarbeiter<sup>1</sup> liegen in (I) (threo-Reihe) die Hydroxylgruppe neben der Phenylgruppe und die Aminogruppe in cis-Stellung (die Formeln sind auf Grund dieser Arbeit dargestellt). So muss die Addition der Elemente des Methylhypobromits (und wahrscheinlich auch die Addition der Elemente anderer Hypobromite) an die Doppelbindung (da Verbindungen der erythro-Reihe zustande kommen) als trans-Addition betrachtet werden.

Eine ausführliche Mitteilung wird in den Hung. chim. Acta erscheinen.

(Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.)

J. KOLLONITSCH, A. HAJÓS,  
V. GABOR  
(und teilweise M. KRAUT)

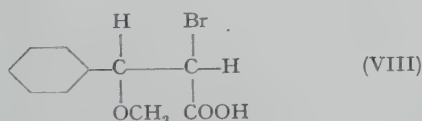
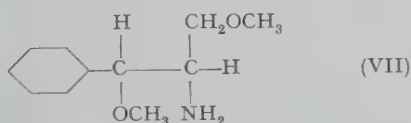
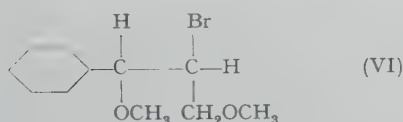
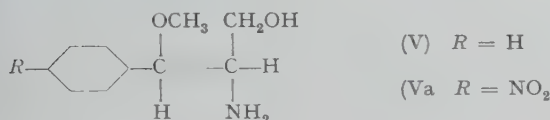
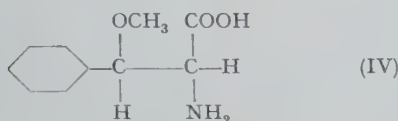
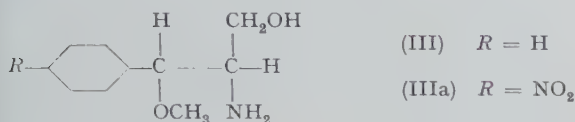
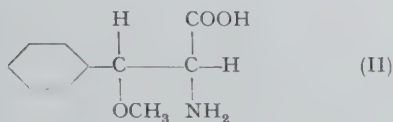
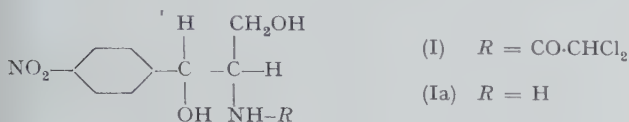
*Laboratorium des Forschungsinstituts für die pharmazeutische Industrie und der Fabrik Chinoin, Budapest, den 20. April 1954.*

## Summary

Two new syntheses of Chloramphenicol are described starting from the diastereoisomers of  $\beta$ -phenylserin-methyl ether and cinnamyl alcohol methyl ether respectively. The configurational correlation of the diastereoisomers of  $\beta$ -phenylserin-methyl ether with  $\beta$ -phenylserin and chloramphenicol is discussed. A new method for transforming erythro- $\beta$ -phenylserinol into threo- $\beta$ -phenylserinol is described. New examples of the "Neighboring group effect" were studied. The sterical course of the addition of methylhypobromite to the double bond is discussed.

<sup>1</sup> B. GREY, C. r. Acad. Sci. 202, 664 (1936).

<sup>1</sup> G. FODOR, J. KISS und J. SALLAY, J. Chem. Soc. 1951, 1858.





## Über das Vorkommen von Ergotamin in spanischem Mutterkorn

Das Ergotamin wird nach STOLL<sup>1</sup> zweckmässigerweise aus einem hiezu geeigneten Mutterkorn zentraleuropäischer Provenienz gewonnen. In spanischem Mutterkorn, das vorwiegend Ergotoxin-Alkaloide enthält, wurde jedoch das Ergotamin bisher nicht aufgefunden. Ein analytisches Trennungs- und Nachweisverfahren für einige Mutterkornalkaloide, unter anderem für Ergotamin, mittels Verteilungschromatographie wurde von CARLESS<sup>2</sup> angegeben, der in den von ihm untersuchten drei Proben von spanischem Mutterkorn kein Ergotamin nachweisen konnte.

Wir haben das von uns zur papierchromatographischen Trennung und quantitativen Bestimmung der einzelnen Mutterkornalkaloide ausgearbeitete Verfahren<sup>3</sup> auch auf die Analyse von über hundert Proben von spanischem Mutterkorn angewendet und konnten das Ergotamin in sämtlichen Proben auffinden, und zwar in einer Menge von 3 bis 8% der gesamten Alkaloide. Der durchschnittliche Gehalt an Ergotamin von mehreren Tonnen spanischen Mutterkorns wurde mit etwa 5% der gesamten Alkaloide ermittelt.

Nach Abtrennung von den übrigen Alkaloiden durch Gegenstromverteilung nach HELLBERG<sup>4</sup> konnten wir rund 70% der analytisch gefundenen Ergotaminmenge als Phthalat<sup>5</sup> isolieren. Aus 2 kg spanischer Mutterkornware wurden so 120 mg Ergotaminphthalat erhalten.

Die Angabe von CARLESS<sup>2</sup>, dass in dem spanischen Mutterkorn etwa 20% der Alkaloide als Ergosin vorliegen, in anderen europäischen Mutterkornvorkommen dagegen weniger, steht in guter Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen.

M. PÖHM

Forschungslaboratorium der pharm.-chem. Fabrik A. v. Waldheim, Wien, den 14. Juni 1954.

### Summary

Ergotamine, which usually is obtained from Central European ergot of rye, has been found for the first time to occur in Spanish ergots in an amount of 3–8% of the total alkaloids.

<sup>1</sup> A. STOLL, *Helv. chim. Acta* 28, 1283 (1945).

<sup>2</sup> J. E. CARLESS, *J. Pharm. Pharmacol.* 5, 883 (1953).

<sup>3</sup> M. PÖHM und L. FUCHS, *Naturwissenschaften* 40, 244 (1953), und 41, 63 (1954).

<sup>4</sup> H. HELLBERG, *Farm. Rev.* 50, 17 (1951), und 52, 535 (1953).

<sup>5</sup> G. H. SVOBODA und G. S. SHAHOVSKOV, *J. Amer. Pharm. Ass., Sci. Ed.* 42, 729 (1953).

## Electron Microscope Study of Intact Tentacles and Disc in *Tokophrya infusionum*

*Tokophrya infusionum* is a small (17–50  $\mu$  in diameter) fresh-water protozoan belonging to the class (or order<sup>1</sup>) Suctoria. The adult form of the organism is sessile, being supported on a slender stalk which in turn is fastened to the substrate by an attaching disc. During this stage of its life, it feeds on living ciliates, such as *Tetrahymena pyriformis*<sup>2</sup>, which come into contact with the adhesive ends of one or more of its long tentacles. After the prey

is secure and paralyzed<sup>1</sup> the tentacles function as small tubes by means of which the contents of the prey are drawn into the body of *Tokophrya*.

The adult reproduces by endogenous budding, forming a succession of ciliated embryos which, after leaving the brood pouch within the parent body, metamorphose to the mature, sessile form. The parent organism retains its identity and continues to reproduce for a period of several days to several weeks before it dies. This latter feature makes *Tokophrya* a useful organism for studies of structural and physiological changes associated with aging<sup>3</sup>.

Considerable interest surrounds the morphology and function of the feeding apparatus or tentacles of these protozoa as well as that of the device by which the organism adheres to a substrate and remains stationary during feeding. In some Suctoria<sup>3</sup> the tentacles are of two types: (a) the prehensile, which serves to capture the prey, and (b) the feeding type, through which the cytoplasm of the prey is drained into the predator. In *Tokophrya*, however, as in most Suctoria, both functions are performed by a single structure. This has the form of a very slender protrusion from the body of the organism, about 15–50  $\mu$  in length and  $\frac{1}{2}$   $\mu$  in diameter, with a rounded knob at its end. The stalk<sup>4</sup> with its attaching disc is likewise a very slender extension (about 1  $\mu$  thick) from the body but nonetheless is a tough one capable of holding the organism against the tugs and pulls of many newly captured ciliates. The functioning of neither of these organelles is well understood, partly because important structural details are too small for light microscope resolution. For this reason it seems of interest to describe a few observations made on their fine structure by electron microscopy. These are preliminary to a more extensive study by these methods, of changes associated with aging.

For the purpose of these investigations *Tokophrya* was cultured in microdrops on either film-coated (formvar) cover glasses or electron microscope grids. Where cover glasses were used the organisms were transferred by way of the thin film to the grid by procedures outlined earlier for cultured tissue cells<sup>5</sup>. Where the culturing was done directly on coated grids this was unnecessary. For this latter procedure stainless steel grids were coated with formvar film under aseptic conditions and as many as 20 grids were picked up on a single cover glass. A small drop of yeast medium<sup>6</sup> containing *Tokophrya* and *Tetrahymena* was placed on each of the grids and the whole preparation mounted over a large well-slide. Since enough food was supplied in each drop, the *Tokophrya* reproduced very quickly and the young organisms settled down on the coated grid and adhered to the formvar by their attaching discs. When after 24 to 48 h sufficient organisms of the appropriate stage had accumulated in the microcultures they were fixed in vapors of 2% OsO<sub>4</sub> and then washed and dried, by the same procedure as that used for cultured tissue cells<sup>5</sup>. The dry preparations were shadowed with gold, or gold manganin, and examined.

*Tentacles.* In the light microscope under oil immersion the tentacle of *Tokophrya infusionum* appears as a

<sup>1</sup> M. A. RUDZINSKA and R. CHAMBERS, *Biol. Bull.* 100, 49 (1951). – Y. GUILCHER, *Ann. Sci. nat., Zool.* 13, 33 (1951). – R. P. HALL, *Protozoology* (Prentice-Hall, Inc., New York, 1953).

<sup>2</sup> M. A. RUDZINSKA, *Science* 113, 10 (1951); *J. Gerontol.* 7, 544 (1952); *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 56, 1087 (1953).

<sup>3</sup> R. R. KUDO, *Protozoology*, 3rd edition (Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1947).

<sup>4</sup> E. FAURÉ-FREMIET, *Bull. Sci. France et Belgique*, 44, 27 (1910).

<sup>5</sup> K. R. PORTER, *J. Exp. Med.* 97, 727 (1953).

<sup>6</sup> D. M. LILLY, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 56, 910 (1953).

<sup>1</sup> E. FAURÉ-FREMIET, *Bull. Soc. Zool. France* 75, 109 (1950).

<sup>2</sup> J. O. CORLISS, *Trans. Amer. Microscop. Soc.* 71, 159 (1952).



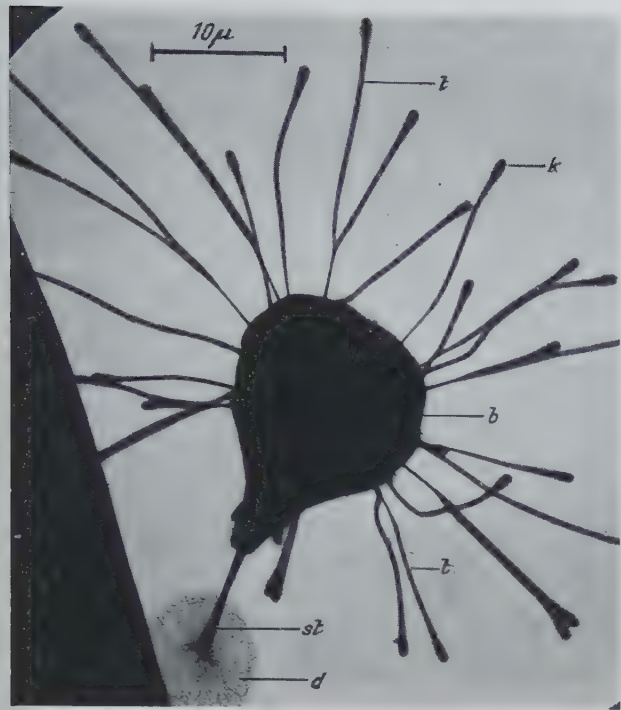


Figure 1.—Low power electron micrograph of a whole, intact *Tokophrya infusioformis*. The body (*b*) is too thick for electron penetration and therefore no internal structure can be seen. *t* = tentacle; *k* = knob; *st* = stalk; *d* = disc. Magnification  $\times 1720$ .

slender, straight, homogeneous projection with a rounded knob at its distal end. Except for the knob, which is a little broader, the tentacle seems to be uniform in diameter (about  $0.5 \mu$ ) throughout its whole length. However, the electron microscope study of whole unsectioned tentacles disclosed that its very distal end, close to the knob, differs appreciably in diameter from the rest of the tentacle (Fig. 1 *t*, Fig. 2). Thus while the major part of the tentacle measures about  $0.5 \mu$  the distal end is about  $1 \mu$ . The internal structure of the tentacle is not too well defined in these whole-mount preparations, but is shown to better advantage than in the electron microscope study performed on tentacles of *Discophrya piriformis*<sup>1</sup>. It exceeds also the remarkably detailed description achieved by means of light microscopy by COLLIN<sup>2</sup>. He was able to distinguish three layers in a tentacle: (1) a pellicular sheath covering the whole tentacle, (2) a fluid cortical plasma, and (3) a wall surrounding the canal of the tentacle. The electron microscope study<sup>3</sup> of the unsectioned, whole tentacle shows that it is indeed covered by a pellicular sheath (Fig. 2 *p*) which appears to be folded (Fig. 2 *f*). Folds have been observed previously by light microscopy in feeding Suctorina<sup>4</sup> and were ascribed by some investigators to the cortical plasma and not to the pellicle<sup>5</sup>. Below the pellicle a plasma membrane can be detected which prob-

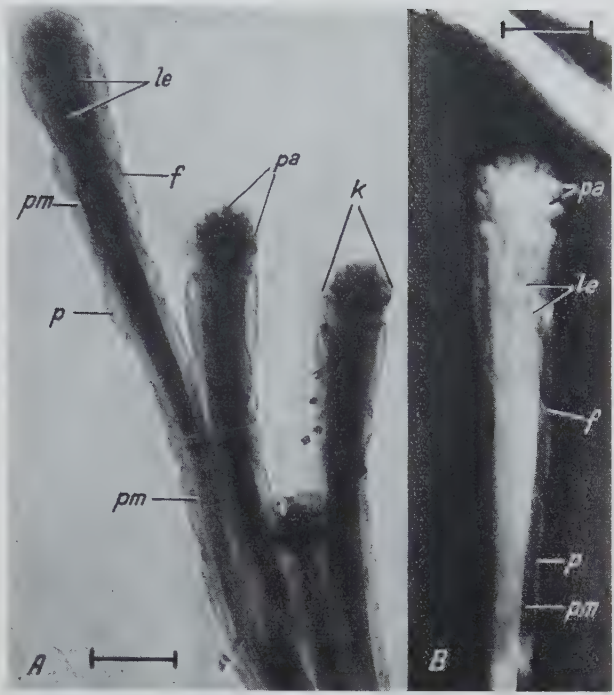


Figure 2A, B.—Higher power of the distal part of the intact tentacles, gold shadowed. *pa* = papillae; *le* = longitudinal elements; *f* = fold; *p* = pellicle; *pm* = plasma membrane; *k* = knob. Magnifications  $\times 10,700$  (A) and  $\times 11,500$  (B).

ably corresponds to COLLIN's cortical plasma (Fig. 2 *pm*). The central component of the tentacle, described by Collin as the wall surrounding the canal of the tentacle, appears to consist of a number of longitudinal elements bundled together (Fig. 2 *le*). The diameter of each is about  $120 m\mu$ . The number of these in a tentacle varies throughout its length. At the base there seems to be only one such element while at its distal end, just behind the knob, there may be as many as four or more. The width of the tentacle increases with the number of longitudinal elements. During feeding the tentacle shortens and broadens, and it seems probable that this is due to the contraction of these longitudinal elements. At the same time the pellicle, which has fixed dimensions, is obliged to develop folds (Fig. 2 *f*).

The end or knob (Fig. 1 *k*, Fig. 2 *k*) of the tentacle is about  $1 \mu$  long and  $1 \mu$  wide and appears to have a complex structure. It obviously consists of a tuft of papillae, averaging nine in number (Fig. 2 *pa*), each about  $130 m\mu$  in diameter. It is probable that the papillae are related to the longitudinal elements as terminations of them. The pellicular sheath ends at the base of the knob and thus leaves the papillae free. Since the swimming prey becomes attached only to the knob of the tentacle it is assumed that the knob is covered with a sticky substance; and there is in fact a suggestion of this in the nature of a homogeneous material surrounding the dried papillae.

**Disc.** The body of the adult *Tokophrya* is supported by a stalk (Fig. 1 *st*, Fig. 3 *st*) which terminates in a disc (Fig. 1 *d*, Fig. 3). The stalk is about  $8-20 \mu$  long and only about  $1 \mu$  thick but is too dense for electron penetration and therefore no internal structure can be seen. The disc by which *Tokophrya* is held on the substrate is about  $8-12 \mu$  in diameter and is very thin and flat. The firmness of its attachment is attested by the

<sup>1</sup> R. BLANC-BRUDE, J. DRAGESCO, and J. HERMET, Bull. Micr. Appl. 1, 29 (1951).

<sup>2</sup> B. COLLIN, Arch. Zool. Exp. et Gén. 51, 1 (1912).

<sup>3</sup> M. A. RUDZINSKA and K. R. PORTER, Anat. Rec. 115, 363 (1953).

<sup>4</sup> B. COLLIN, Arch. Zool. Exp. et Gén. 51, 1 (1912). — E. PENARD, Mém. Soc. Phys. Hist. nat. Genève, 39, 131 (1920). — J. DRAGESCO and Y. GUILCHER Microscopie 2, 17 (1950). — Y. GUILCHER, Ann. Sci. nat., Zool. 13, 33 (1951).

<sup>5</sup> Y. GUILCHER, Ann. Sci. nat., Zool. 13, 33 (1951). — R. BLANC-BRUDE, J. DRAGESCO, and J. HERMET, Bull. Micr. Appl. 1, 29 (1951).



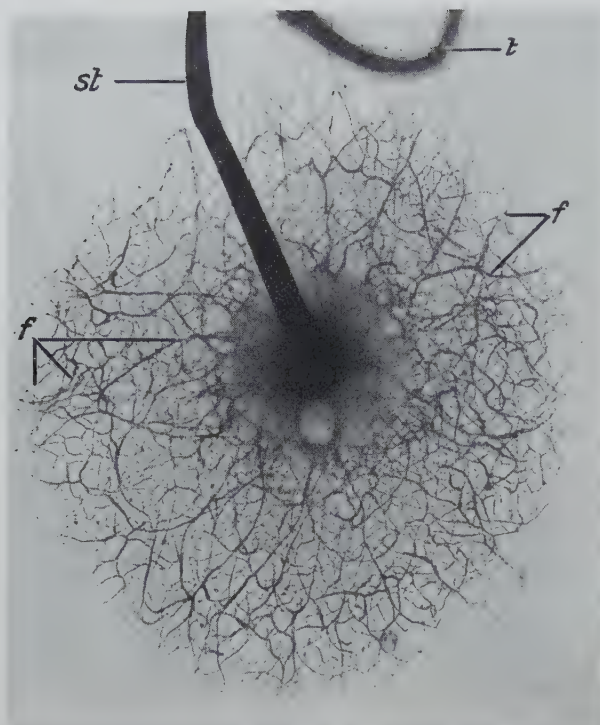


Fig. 3.—Higher power of intact attaching disc and stalk. *f* = fibrils; *st* = stalk; *t* = part of tentacle. Magnification  $\times 6750$ .

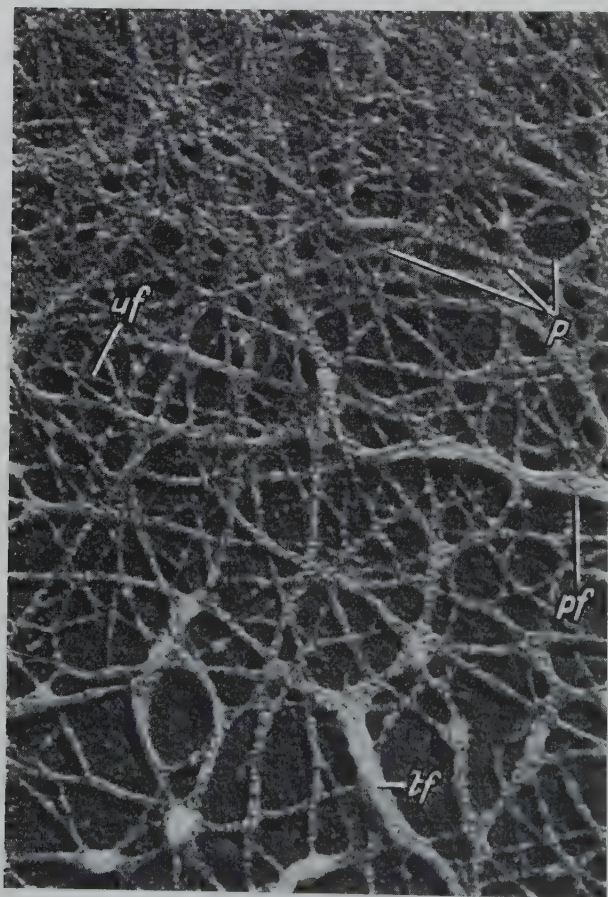


Fig. 4.—High magnification of part of disc, gold manganin-shadowed. *uf* = unit fibril; *tf* = twisted fibrils; *pf* = parallel-running fibrils; *p* = suggestion of periodicity. Magnification  $\times 42,100$ .

observations that one *Tokophrya* may feed on ten or more ciliates at the same time, all struggling to escape, and yet not be wrenched loose from its fixed support. Even after the organism dies and disintegrates, the disc with the stalk remains in place, and in an old culture one can see a dense accumulation of discs on the walls of the culture vessel.

This very thin organelle, structureless under the light microscope, presents a very complicated structure in the electron microscope (Fig. 3). It consists of a felt or meshwork of innumerable, fine, unit fibrils about 150 Å in diameter (Fig. 4 *uf*). There is no limiting membrane around the disc and the fibrils end free at the periphery. Single fibrils are best seen and measured in this region. In micrographs taken at higher magnifications there is scattered evidence of periodicity in the structure of the unit fibrils. The spacing is about 120 Å (Fig. 4 *p*). It is difficult, to measure the length of the unit fibrils because they are frequently intertwined and tangled. Some are twisted to form ropes (Fig. 4 *tf*); others run parallel in bands (Fig. 4 *pf*), resembling the cellulose fibers of plants<sup>1</sup>. It is conceivable that they are formed in much the same way as cellulose in *Acetobacterium xylinum*<sup>2</sup> by polymerization of a homogeneous substance, the future stalk and disc, secreted from the embryo at the time it settles down to undergo metamorphosis.

MARIA A. RUDZINSKA<sup>3</sup> and K. R. PORTER

Laboratories of the Rockefeller Institute for Medical Research, New York 21, N.Y., June 28, 1954.

#### Zusammenfassung

Elektronenmikroskopische Untersuchungen am sessilen Süsswasser-Protisten *Tokophrya infusionum* zeigen besonders komplizierte Strukturen der «Tentakel» und der «Haftscheibe». Die Tentakel sind von zwei Membranen umgeben und umschliessen eine Anzahl von Längselementen. Ihre Spitzen sind aus einer grösseren Zahl von «Papillen» zusammengesetzt. Die Haftscheibe besteht aus einem reichen Fibrillennetz.

<sup>1</sup> K. MÜHLETHALER, Biochim. Biophys. Acta 3, 527 (1949); Z. Zellforsch. 38, 299 (1953).

<sup>2</sup> K. MÜHLETHALER, Biochim. Biophys. Acta 3, 527 (1949).

<sup>3</sup> Supported by a grant from the National Heart Institute, U.S. Public Health Service.

#### The Visualization of the Granulated Mitochondrial Inner Body through Treatment of Isolated Mitochondria with Xylene<sup>1</sup>

In a previous communication it was shown<sup>2</sup> that isolated rat liver mitochondria suspended in distilled water and dried down on Formvar films *in vacuo* at 0°C are an excellent object for electronmicroscopical studies of mitochondrial structure. In such preparations the mitochondria revealed themselves as composed of three main constituents: (1) a granulated inner body, (2) a very finely granulated matrix material and (3) a membrane surrounding the mitochondrion.

<sup>1</sup> This work is a part of an investigation supported by a grant from The Swedish Cancer Society.

<sup>2</sup> G. GLIMSTEDT, S. LAGERSTEDT, and K. S. LUDWIG, Exp. Cell Res. 7, 1954 (in press).



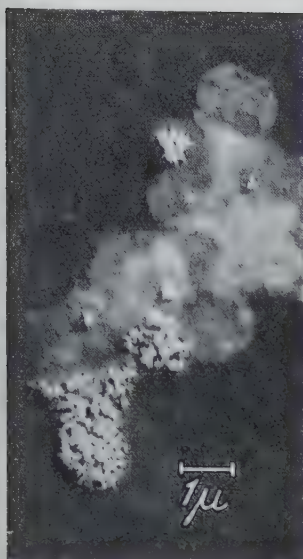


Fig. 1.



Fig. 2.

Fig. 1.—Mitochondrial preparation dried at 0°C, treated with xylene for 20 min. The clearly shown granular inner body is restricted to the outlines of the mitochondria.

Fig. 2.—Smear of inner body granules, prepared as described in text. The individual granules have a diameter of approx. 300 Å.

In earlier investigations<sup>1</sup> of isolated mitochondria after  $\text{OsO}_4$  fixation the inner body was found to be composed of equal-sized granules, each approx.  $0.1 \mu$  in diameter. However, some doubt was felt about the correctness of the dimensions given, as granules could occasionally be observed showing a disc-like appearance, possibly based on smaller components within the single granule<sup>1</sup>. The discovery of the matrix material<sup>2</sup> gave an explanation of the difficulties previously met with, as matrix substance, when covering the inner body, obviously impaired the optimal conditions for detailed observation. In a series of investigations testing the effect of different fixatives and solutes on the directly dried mitochondria<sup>3</sup>, it was found that treatment with xylene revealed the ultrastructure of the inner bodies in a rather interesting way, which will be reported here.

Rat-liver mitochondria, isolated from 0.88 *M* sucrose solution by differential centrifugation, and then suspended in distilled water, were dried on Formvar films on the screens as previously described<sup>3</sup>. Drops of xylene covering the preparations were left there in a closed PETRI dish for 5, 10, 20, 40, and 80 min. After withdrawal of the xylene, the preparations were dried *in vacuo*. The observations were made after shadow-casting at 30° angle with palladium in a SIEGBAHN-SCHÖNANDER electron microscope at 50 kV.

After 5 min xylene treatment, the granules earlier<sup>1</sup> observed with a diameter of  $0.1 \mu$  were clearly seen. After 20 min, however, the individual granule was resolved into smaller units (Fig. 1). Further increase of the time of treatment did not change the picture with reference to the inner bodies. If the xylene was carefully

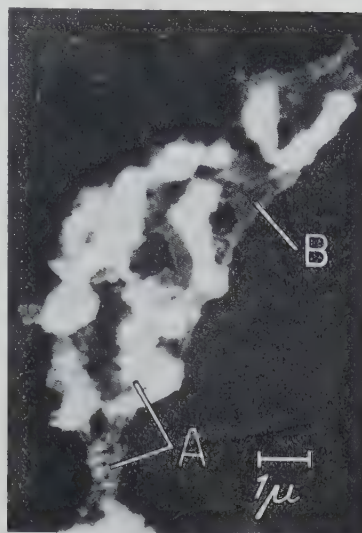


Fig. 3.



Fig. 4.

Fig. 3.—Frozen-dried mitochondrial suspension from 0.88 *M* sucrose solution. A = Inner bodies. B = membranes.

Fig. 4.—Same preparation as in Figure 3 but after 20 min treatment with xylene. The inner body now shows the granular structure with the granules forming a cross-striation at several places (f.i. as indicated by the arrow).

withdrawn, the position of the granules closely followed the outlines of the mitochondria. After washing of the preparations with xylene in a definite direction, it was found that the granules had been removed from their original localization and now formed smears of granular material from the mitochondria and in the direction of the stream of xylene. In such preparations it was easy to measure the sizes of the individual granules, which was found to be of the magnitude of 300 Å (Fig. 2).

To be sure that the material here described as inner bodies really belonged to the inner parts of the mitochondria, and also to get better preservation of the intact mitochondria but without preliminary fixation, trials were made to investigate frozen-dried mitochondria before and after xylene treatment. For this purpose drops of mitochondrial suspensions in 0.88 *M* sucrose solution as well as in distilled water, were placed on screens, covered with Formvar films. The screens were immersed in propane, previously cooled by liquid nitrogen to about  $-190^\circ\text{C}$ , and, after the freezing, dried in an apparatus according to GLICK-MALMSTRÖM<sup>1</sup> at  $-80^\circ\text{C}$ . To remove the heaps of sucrose covering the mitochondria from 0.88 *M* sucrose solutions, the mitochondria were fixed in vapour from 70% alcohol<sup>2</sup> during 5 min and then washed with 3–4 drops of distilled water. After drying *in vacuo* some of these preparations, together with a number of those directly frozen-dried from distilled water, were treated with xylene as described above. The others were directly shadowcast and used as controls.

From the point of view of preserving the morphological relations between the components of the intact mitochondrion, the attempts to freeze-dry the distilled water suspensions were not too successful. It was quite obvious that the mitochondrial spheres, in which form

<sup>1</sup> G. GLIMSTEDT and S. LAGERSTEDT, Kungl. Fysiograf. Sällsk. Handl. N. F. 64, 3 (1953); Kungl. Fysiograf. Sällsk. Förhandl. 23, 1 (1953); Anat. Anz. 100, Erg. H. 97 (1954).

<sup>2</sup> G. GLIMSTEDT, S. LAGERSTEDT, and K. S. LUDWIG, Exp. Cell Res. 7, 1954 (in press).

<sup>3</sup> G. GLIMSTEDT, S. LAGERSTEDT, and K. S. LUDWIG (to be published).

<sup>1</sup> D. GLICK and B. G. MALMSTRÖM, Exp. Cell Res. 3, 125 (1952).

<sup>2</sup> G. GLIMSTEDT, S. LAGERSTEDT, and K. S. LUDWIG (to be published).



the mitochondria appear in distilled water preparations<sup>1</sup>, burst, probably as a result of the freezing and drying. On the pictures the three main components i.e. membranes, inner bodies and matrix substance, are easily recognized, but their mutual relationships are hard to ascertain, as they form fragments scattered over the fields of view. After xylene treatment, however, the inner bodies were found to be composed of smaller granules, just as after drying at 0°C. The dimensions of these granules were also found to be the same as in the directly dried ones, i.e. 300 Å.

On the contrary, in those mitochondria which had been frozen-dried from 0.88 *M* sucrose solution, the mitochondrial membranes were obviously broken up, but with localization of the inner parts of the mitochondria largely retained (Fig. 3). There were no signs of swelling of the membranes, as their remnants fit quite well the dimensions of the mitochondria present. The inner structure is revealed partly as a homogeneous mass, sometimes showing a cross-striation, and partly as composed of granules approx. 0.1  $\mu$  in diameter. After treatment with xylene, the granules were visualized as composed of smaller granules of approx. 300 Å diameter (Fig. 4). In places where the original morphology of the inner parts of the mitochondrion probably was retained, these granules were seen to give rise to a cross-striation of the mitochondria. The preparation method here employed is too crude as yet to allow a detailed study of the mutual relations of the granules.

It is surprising that the mitochondrial membranes, which in this type of preparation are seemingly not distended, and where the parts shown to the observer seem to be rather intact, do not show any lamellar structures protruding into the mitochondria. This is not in agreement with the observations<sup>2</sup> in thin sections of embedded material, where a cross-striation of the inner parts of the mitochondrial body is attributed to intra-mitochondrial membranes, entirely<sup>3</sup> or partly<sup>4</sup> going across the mitochondria. Any membranes in this sense were not found in sectioning isolated mitochondria<sup>5</sup>. On the other hand, a cross-striation of the mitochondrial body has repeatedly been observed in isolated material, as well as after fixation of mitochondria with OsO<sub>4</sub> in 0.88 *M* sucrose solutions<sup>6</sup>. The absence of intra-mitochondrial membranous structures in the present material could not be attributed to any damage due to the washings with water after fixation in alcoholic vapour, as shown in experiments performed in this laboratory<sup>7</sup>. The possibility remains that the cross-striation observed in sectioned material may not correspond to membranes within the mitochondria, but to the periodic arrangement of material with different electron-scattering power perpendicular to the long axis of the mitochondria. This hypothesis would find support in the observations on the arrangement of the granules forming the inner body in the present investigation, especially as

the dimensions here found are in good agreement with those reported for the distances between the intra-mitochondrial cross-striations. The question is receiving further attention in this laboratory.

G. GLIMSTEDT, S. LAGERSTEDT,  
and K. S. LUDWIG<sup>1</sup>

Department of Histology, University of Lund, Sweden,  
July 16, 1954.

#### Zusammenfassung

Die Autoren stellen mit einer speziellen Technik Präparate von aus Rattenleber isolierten Mitochondrien her, die mit Xylol nachbehandelt werden. Dadurch wird der Innenkörper der Mitochondrien einer eingehenden elektronenmikroskopischen Untersuchung zugänglich. Der Innenkörper besteht aus einzelnen Granula, die einen Durchmesser von 300 Å haben. Die Anordnung der Granula ergibt eine charakteristische Querstreifung des Innenkörpers.

<sup>1</sup> Research Fellow aided by the "Stiftung für biologisch-medizinische Stipendien", Basle (Switzerland). Present address: Institute of Anatomy, University of Basle.

#### Un cas nouveau de chromosomes sexuels multiples dans le genre *Gerbillus* (Rodentia – Muridae – Gerbillinae)

J'ai fait connaître<sup>1</sup> les conditions chromosomiques chez trois espèces de *Gerbillus*: *G. campestris* et *G. garmantis* ont respectivement 56 et 54 chromosomes, les mâles étant dotés d'un couple *X-Y* du type habituel pour la sous-famille; l'*X* est métacentrique, l'*Y* sub-métacentrique, les deux hétérochromosomes étant de grande taille. Chez *G. pyramidum*, le nombre diploïde est de 40. A la méiose, il y a formation facultative d'un quadrivalent sexuel, le couple *X-Y* pouvant s'associer à un bivalent autosomique. L'interprétation du cas est facile et se fonde sur l'hypothèse d'une petite translocation entre l'un des bras court d'un autosome et le chromosome *X*.

Ainsi, au total, quatre cas de chromosomes sexuels multiples ont été décrits chez des Mammifères. Voici le cinquième.

*Gerbillus gerbillus* OLIVIER (les sujets étudiés proviennent du sud de l'Algérie et m'ont été donnés par le Dr F. PETTER du Muséum de Paris) est doté de 43 chromosomes, probablement tous métacentriques, ce nombre ayant été établi par l'analyse des cinèses spermatogoniales du mâle (Fig. 1). L'un des éléments est immédiatement reconnaissable à sa taille atteignant 10  $\mu$  et à sa forme asymétrique, le centromère séparant deux bras dont l'un est six à sept fois plus long que l'autre. Cet *X* diffère beaucoup de celui de tous les autres *Gerbillinae* étudiés dont l'*X* est un métacentrique.

Le nombre impair 43 laisse supposer que la femelle a 44 chromosomes, ce qui signifierait une digamétie mâle de type *X-O*. Il n'en est rien: des «squashes» d'ovaire permettent d'obtenir des figures correctes de mitoses dans les cellules folliculaires: ces divisions (Fig. 2) montrent 2 *X* et, au total, 42 chromosomes. Ceci implique l'existence de chromosomes sexuels multiples et le schéma: ♂ : *X* - *Y*<sub>1</sub>*Y*<sub>2</sub> · ♀ : *X* - *X*.

<sup>1</sup> R. MATTHEY, Arch. J.-Klaus-Stift. Vererbungsforsch. 27 (1952); Rev. suisse Zool. 60 (1953); Caryologia 6, 1954).

<sup>1</sup> K. W. CLELAND, Nature 170, 497 (1952). – J. L. FARRANT, R. N. ROBERTSON, and M. J. WILKINS, Nature 171, 401 (1953). – J. W. HARMAN, Exp. Cell. Res. 1, 394 (1950). – H. U. ZOLLINGER, Amer. J. Path. 24, 569 (1948); Schweiz. Z. Path. Bakt. 11, 617 (1948).

<sup>2</sup> F. S. SJÖSTRAND and J. RHODIN, Exp. Cell Res. 4, 426 (1953). – G. E. PALADE, Anat. Rec. 114, 427 (1952).

<sup>3</sup> F. S. SJÖSTRAND and J. RHODIN, Exp. Cell Res. 4, 426 (1953).

<sup>4</sup> G. E. PALADE, Anat. Rec. 114, 427 (1952).

<sup>5</sup> R. WEBER, Z. Zellforsch. 39, 630 (1954).

<sup>6</sup> G. GLIMSTEDT and S. LAGERSTEDT, Kungl. Fysiograf. Sällsk. Handl. N. F. 64, 3 (1953); Kungl. Fysiograf. Sällsk. Förhandl. 23, 1 (1953); Anat. Anz. 100, Erg. H. 97 (1954).

<sup>7</sup> G. GLIMSTEDT, S. LAGERSTEDT, and K. S. LUDWIG (to be published).



Une telle formule présuppose la formation méiotique d'un trivalent avec disjonction anaphasique en  $X$  et  $Y_1Y_2$ . Il doit donc exister des métaphases II de deux types, l'un avec 21 dyades dont l' $X$ , l'autre sans  $X$  mais avec 22 éléments. Ces prévisions se réalisent exactement comme les Figures 3–6 le démontrent. A la métaphase I (Fig. 3), il y a 21 constituants, le trivalent sexuel étant formé de l' $X$  et de deux petits chromosomes formant un bivalent rattaché à l'extrémité distale de l' $X$ . Il est douteux que cette liaison soit chiasmatisque, ce qui impliquerait l'existence d'un triple chiasma. Les profils (Fig. 4) montrent la disjonction en  $X$  et  $Y_1Y_2$  et les secondes cinèses sont effectivement de deux types caractérisés par 21 et 22 chromosomes. Les figures à 21 (Fig. 6) permettent d'identifier facilement le grand  $X$  qui manque aux divisions montrant 22 chromosomes.

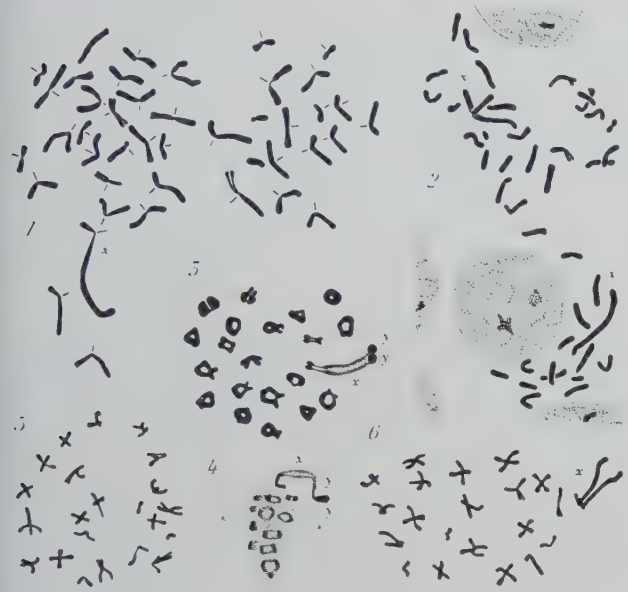


Fig. 1. Prométaphase spermatogonale, 43 chromosomes.  
Fig. 2. Prométaphase folliculaire, 42 chromosomes.  
Fig. 3. Métaphase I vue en plaque équatoriale, 20 bivalents et le trivalent sexuel  $X$ - $Y_1Y_2$ .  
Fig. 4. Métaphase I vue de profil avec le trivalent sexuel.  
Fig. 5. Métaphase II, 22 chromosomes.  
Fig. 6. Métaphase II, 21 chromosomes dont l' $X$ .  
Les figures 1–3 et 5–6 d'après des préparations par écrasement. La Figure 4 d'après une coupe. FEULGEN.  $\times 1400$ .

Si la démonstration du type de digamétie est aisée, son interprétation cytogénétique est très difficile. Il conviendra de comprendre aussi les rapports qui peuvent exister entre les chromosomes sexuels multiples de *G. pyramidum* et ceux de *G. gerbillus*.

R. MATTHEY

Laboratoire de zoologie de l'Université de Lausanne, le 30 juin 1954.

Summary

4 species of the genus *Gerbillus* have been studied by the author; two belong to the usual scheme  $X$ - $Y$ ,  $X$ - $X$ , two are provided with multiple sex-chromosomes. *Gerbillus gerbillus* ♂ shows at the first metaphase a sexual trivalent  $X$ - $Y_1Y_2$  and 20 autosomal bivalents. The diploid number is 43. As expected, there is two types of metaphases II, with 21 and 22 elements respectively. The diploid number of the ♀ is 42 (two  $X$ ).

Enhanced Susceptibility of a Highly Resistant Strain of Houseflies to Ingestion of Potassium Bromide

Various observations, that field resistant houseflies are more vigorous<sup>1</sup> have been recorded and, indeed, resistant strains from Sweden<sup>2</sup> and Egypt<sup>3</sup>, have been found to be more resistant to adverse temperatures than susceptible strains. Others, on the contrary, hold the opinion, that the genes for insecticide resistance must somehow be detrimental<sup>4</sup> and that *high* resistance may be linked with cases of low viability, slower larval development<sup>5</sup> and decreased reproductive potential in the housefly and to some lesser extent in other resistant insects<sup>6</sup>. Finally, no significant difference could be shown between the resistant Bellflower strain, California, and a susceptible strain, as regards length of life cycle, average weight and susceptibility to heat and cold<sup>7</sup>. BABERS, PRATT, and WILLIAMS<sup>8</sup> could find no difference attributable to resistance between 6 susceptible and 2 resistant strains of houseflies, as regards egg viability, length of larval life and number of adult flies obtained; they attribute the differences in larval period found by other authors to differences in environment<sup>9</sup> and to the large variation in the length of larval period, which is not peculiar to resistant strains<sup>10</sup>. They found, however, that the percentage of hatch of eggs of their most resistant strain ( $R$ -OB<sub>64</sub>) was definitely lower than that of other strains<sup>10</sup>.

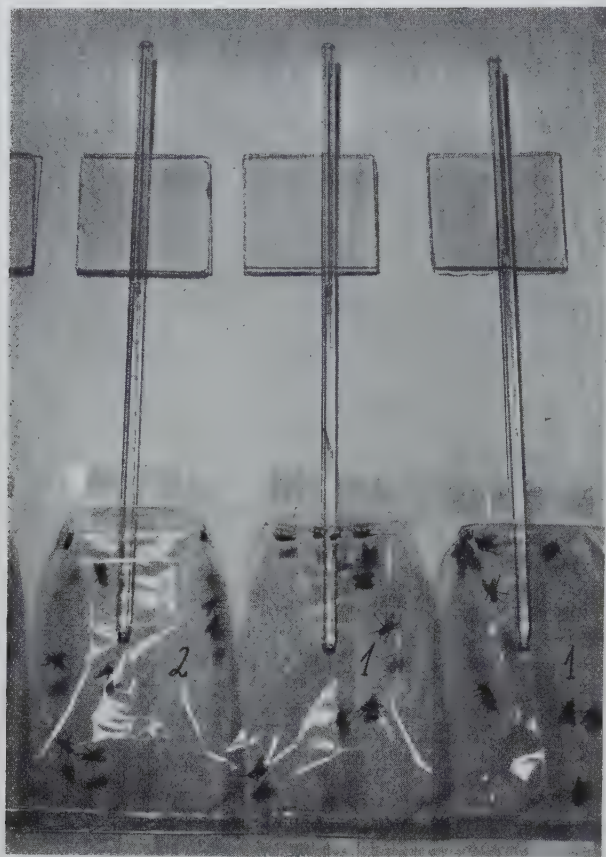
In a recent study, VARZANDEH, BRUCE, and DECKER<sup>11</sup> demonstrated with 3 susceptible and 4 resistant strains that "the inheritance of the factors associated with vigor such as egg production, pupal or adult weights, longevity of adults, egg hatchability and the survival of larvae and pupae, were independent of the factors associated with resistance". The only difference found by these authors is that, in general, resistant strains tended to have the longer pupal period.

In view of this controversy, it was deemed of interest to record here experiments in which the response of houseflies to the ingestion of salt solutions was investigated.

*Experimental.*—The majority of the experiments was carried out with a susceptible strain ( $T_1$ )<sup>12</sup> of *Musca domestica* L. and a highly resistant strain ( $K_1$ )<sup>12</sup>. The eggs

<sup>1</sup> H. TRAPIDO and J. M. WEIR cited by A. D. HESS, Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1, 371 (1952). — A. MISSIROLI, Riv. Parassitol. 12 (1), 5 (1951).  
<sup>2</sup> R. WIESMANN, Mitt. Schweiz. Ent. Ges. 20, 484 (1947).  
<sup>3</sup> J. M. WEIR cited by A. D. HESS, Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1, 371 (1952).  
<sup>4</sup> J. F. CROW, Conference on Insecticide Resistance and Insect Physiology, Natl. Acad. Sci. Publ. No. 219, p. 72 (Washington 1952).  
<sup>5</sup> W. N. BRUCE, Pest Control 17 (6), 7 (1949). — D. PIMENTEL, H. H. SCHWARDT, J. E. DEWEY, and L. B. NORTON, Soap Sanit. Chem. 26 (12), 94 (1950). — F. M. SNYDER, cited by L. E. CHADWICK, Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1, 404 (1952). — Claims to the contrary, namely that the larval life of a resistant strain is slightly shorter than that of a susceptible strain, have also been advanced; see e.g. M. GALLIANI, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 26 (3), 326 (1952).  
<sup>6</sup> R. W. FAY, W. C. BAKER, and M. M. GRAINGER, J. Natl. Mal. Soc. 3, 137 (1949).  
<sup>7</sup> R. B. MARCH and L. L. LEWALLEN, J. Econ. Ent. 43, 721 (1950). — R. B. MARCH and R. L. METCALF, Soap Sanit. Chem. 26 (7), 121 (1950).  
<sup>8</sup> F. H. BABERS, J. J. PRATT, and M. WILLIAMS, J. Econ. Ent. 46, 914 (1953).  
<sup>9</sup> J. J. PRATT and F. H. BABERS, J. Econ. Ent. 46, 864 (1953).  
<sup>10</sup> F. H. BABERS, J. J. PRATT, and M. WILLIAMS, J. Econ. Ent. 46, 914 (1953).  
<sup>11</sup> M. VARZANDEH, W. N. BRUCE, and G. C. DECKER, J. Econ. Ent. 47, 129 (1954).  
<sup>12</sup> C. KOCHER, W. ROTH, and J. TREBOUX, Anz. Schädlingssk. 26 (5), 65 (1953).





Feeding of flies with salt solutions. The pipettes are introduced through closely fitting holes in the cellophane bags, cut with a cork borer and are kept in slightly slanted position with the help of small glass plates. The cellophane bags are closed by folding the open end twice, wetting the margin with water and pressing down. Bags and pipettes are fixed to the table with cellulose tape.

of this strain are obtained from a *breeding* parent colony, kept since 1948 in continuous contact with dichlorodiphenyltrichloroethane. Apart from this, the two strains are grown under exactly identical conditions since 6 years<sup>1</sup>. Three days old females (average weight of 17.5 mg in both strains) were selected (immobilization by chilling) and introduced in groups of ten into perforated cellophane bags (BERAN<sup>2</sup>). The solutions, which always contained in addition 2% sugar<sup>3</sup>, were offered to the flies in 1 ml graduated pipettes<sup>4</sup>, cut off at the 0.99 ml mark in order to facilitate access (Figure). Each test was done with  $5 \times 10$  flies and repeated at least 4 times on different days. The control runs were done with flies fed on 2% sugar solutions only, while rates of evaporation of the solutions were determined in the same type of arrangement *without* flies. The temperature was 23°C. Essentially the same results were obtained, when the solutions were offered on cotton wool.

**Results.** No difference was shown in the response of the two strains to solutions of potassium arsenate, bromate, chloride, iodide, thiocyanate, nitrate, ferricyanide, ferro-

cyanide and formate, and sodium oxalate and borax, in different concentrations. On the other hand it was found, that  $K_1$  was more susceptible to KBr than  $T_1$  (Table I). From Table II it is discernible, that while the toxicity of NaBr and  $NH_4Br$  is somewhat lower than that of KBr, the difference in the response of the two strains is less marked, especially in  $NH_4Br$ .  $MgBr_2$  and especially  $CaBr_2$  are evidently much less toxic. It was found that flies of the two strains always drank equal amounts of the solutions offered until onset of knockdown.

Table I.—Toxicities of solutions of KBr to strains  $K_1$  and  $T_1$

| Solution*  | Strain         | Observed after |      |        |      | Average amount<br>of solution per<br>fly, ingested<br>during the first<br>14 h, in ml** |
|------------|----------------|----------------|------|--------|------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
|            |                | 14 h           | 17 h | 20.5 h | 24 h |                                                                                         |
|            |                | % Knock-down   |      |        |      |                                                                                         |
| 0.2 N KBr  | K <sub>1</sub> | 30             | 51   | 70     | 88   | 0.007                                                                                   |
|            | T <sub>1</sub> | 12             | 20   | 33     | 44   |                                                                                         |
| 0.1 N KBr  | K <sub>1</sub> | 24             | 30   | 37     | 54   | 0.012                                                                                   |
|            | T <sub>1</sub> | 6              | 10   | 17.5   | 32.5 |                                                                                         |
| 0.05 N KBr | K <sub>1</sub> | 10             | 18   | 31     | 36   | 0.014                                                                                   |
|            | T <sub>1</sub> | 2              | 5    | 14     | 18   |                                                                                         |
| Control    | K <sub>1</sub> | 0              | 0    | 0      | 0    | 0.017                                                                                   |
|            | T <sub>1</sub> | 0              | 0    | 0      | 0    |                                                                                         |

It is of interest to compare these results with the classical work of LOEB about the toxicity of bromides to fish (*Fundulus*). NaBr, highly toxic<sup>1</sup> to *Fundulus*, was more toxic than  $MgBr_2$ <sup>2</sup> and much more toxic than  $CaBr_2$ <sup>3</sup>.

Table II.—Toxicity of various bromides to strains  $K_1$  and  $T_1$

| Solution*          | % Knock-down after 24 h |       | Average amount of solution per fly, ingested during the first 14 h, in ml** |
|--------------------|-------------------------|-------|-----------------------------------------------------------------------------|
|                    | $K_1$                   | $T_1$ |                                                                             |
| 0.2 N KBr . . .    | 90                      | 49    | 0.007                                                                       |
| 0.2 N NaBr . . .   | 80                      | 55    | 0.007                                                                       |
| 0.2 N $NH_4Br$ . . | 71                      | 57.5  | 0.007                                                                       |
| 0.2 N $MgBr_2$ . . | 39.5                    | 20    | 0.006                                                                       |
| 0.2 N $CaBr_2$ . . | 15                      | 5     | 0.005                                                                       |
| Control . . . . .  | 1                       | 0     | 0.017                                                                       |

\* All solutions contained also 2% sugar.

\*\* Corrected for evaporation.

LOEB also demonstrated<sup>4</sup>, that NaBr solutions could be detoxified by equimolecular quantities of NaCl. Similar effects could now be shown in the housefly (Table III). In KBr-KCl mixtures, KCl gave full protection in the 1:1 ratio, while affording some protection even in the 4:1 ratio. KJ affords a certain protection in the 1:1 ratio, slight protection in the 2:1 ratio, while affording no protection at all in the 4:1 ratio.  $KNO_3$  offers only slight protection even in the 1:1 ratio.

<sup>1</sup> J. LOEB and H. WASTENEYS, *Biochem. Z.* 39, 183 (1912).

<sup>2</sup> J. LOEB, *Biochem. Z.* 66, 277 (1914).

<sup>3</sup> J. LOEB, *Biochem. Z.* 39, 194 (1912).

<sup>4</sup> J. LOEB and H. WASTENEYS, *Biochem. Z.* 39, 183 (1912). – J. LOEB, *Biochem. Z.* 43, 181 (1912).

<sup>1</sup> No difference was found between these two strains in their resistance to abiotic temperatures, K. R. S. ASCHER (unpublished data).

<sup>2</sup> F. BERAN, *Pflanzenschutzber.* 11, 151 (1953).

<sup>3</sup> No differences were noted in series prepared with 1, 2, and 3% sugar; 10% sugar, however, caused higher mortalities.

<sup>4</sup> T. STAUDENMAYER, *Z. vgl. Physiol.* 26, 644 (1939).



Table III.—Rate of protection afforded to strain  $K_1$  by KCl, KJ, and  $KNO_3$  against poisoning by KBr

| Solution*                         | % Knock-down after 24 h |
|-----------------------------------|-------------------------|
| 0.2 N KBr+0.2 N KCl . . . . .     | 7.5                     |
| +0.1 N KCl . . . . .              | 20                      |
| +0.05N KCl . . . . .              | 37.5                    |
| 0.2 N KBr+0.2 N KJ . . . . .      | 21                      |
| +0.1 N KJ . . . . .               | 53.5                    |
| +0.05N KJ . . . . .               | 75                      |
| 0.2 N KBr+0.2 N $KNO_3$ . . . . . | 46                      |
| Control . . . . .                 | 2                       |

\* All solutions contained also 2% sugar.

The enhanced susceptibility of the highly resistant  $K_1$  strain is evidently a strain specificity, since it could not be demonstrated in a strain from Venezuela (only slightly resistant to dichlorodiphenyltrichloroethane) and in 3 strains selected (by contact of short duration in each generation of *breeding* adults only) for resistance to lindane, dieldrin and pyrolan, respectively.

The observation of BARTLETT<sup>1</sup>, who found that among strains of *Drosophila melanogaster* Meig. (from U.S.A., Sweden and Canada), some strains susceptible to dichlorodiphenyltrichloroethane were much more resistant to HCN, than strains resistant to dichlorodiphenyltrichloroethane, seems to belong in the same category<sup>2</sup>.

It is intended to pursue this study by proving or disproving the conjecture, that the enhanced susceptibility of the strain  $K_1$  to KBr is due to its reduced chloride content, caused by a detoxification mechanism, which is in action, even when the insect is not exposed to dichlorodiphenyltrichloroethane.

K. R. S. ASCHER<sup>3</sup> and C. KOCHER

Research Laboratories of J.R. Geigy S.A., Basle, July 8, 1954.

#### Résumé

Une souche de mouches résistant au dichlorodiphényltrichloroéthane fut trouvée plus susceptible à l'ingestion de bromure de potassium qu'une souche de mouches normales. Il s'agit là évidemment d'une caractéristique spécifique de cette souche, étant donné que l'on n'a pas pu observer une susceptibilité plus élevée vis-à-vis du bromure de potassium chez des souches résistant à d'autres insecticides.

<sup>1</sup> B. R. BARTLETT, Can. Entomologist 84 (7), 189 (1952).

<sup>2</sup> A detoxification of NaCl by traces of KCN has been demonstrated with fertilized sea urchin eggs by LOEB, Biochem. Z. 27, 304 (1910).

<sup>3</sup> Permanent address: Medical Research Laboratories, Medical Corps, Israel Defence Forces, Israel.

## Analyses chromatographiques des corticoïdes extraits du liquide amniotique d'une femme diabétique

Nous avons soumis à l'analyse chromatographique des extraits de liquides amniotiques normaux.

La préparation des extraits a été faite selon le «flow-sheet» Figure 2, page 468.

La chromatographie sur papier a été faite par la technique de BUSH<sup>1</sup>.

L'identification des fractions chromatographiques est basée sur leur vitesse de migration, sur la réaction avec le bleu de Tetrazolium (CHEN<sup>2</sup>) et sur les tests de fluorescence en lumière U.V. après traitement par NaOH (BUSH<sup>1</sup>) et par  $H_3PO_4$  (NEHER et WETTSTEIN<sup>3</sup>).

Aucun des chromatogrammes des extraits de liquides amniotiques normaux n'a permis de reconnaître l'existence de la 17-hydroxycorticostérone et de la cortisone ou d'une autre fraction de caractère stéroïde certain. Les très faibles réactions qui ont pu être décelées sur le chromatogramme ne peuvent correspondre qu'à des quantités infinitésimales. Par exemple l'extrait provenant de deux litres de liquides amniotiques normaux (mélange obtenu de trois cas strictement normaux) n'a pas permis de mettre en évidence une trace de la 17-hydroxycorticostérone ou de la cortisone.

Le chromatogramme de l'extrait de 650 ml du liquide amniotique de femme diabétique<sup>4</sup>, permet de reconnaître les fractions qui correspondent au point de vue de leurs positions et de leurs propriétés réactionnelles à la 17-hydroxycorticostérone et à la cortisone (Fig. 1).

Nous avons apprécié par comparaison visuelle avec les chromatogrammes de référence les quantités de ces deux substances présentes dans l'extrait. Notre approximation aboutit entre 25 et 50  $\mu g$  pour la totalité de l'extrait, c'est-à-dire, une concentration de 4 à 8  $\mu g$  par 100 ml de liquide.

Chromatographie sur papier. Liquide amniotique femme diabétique

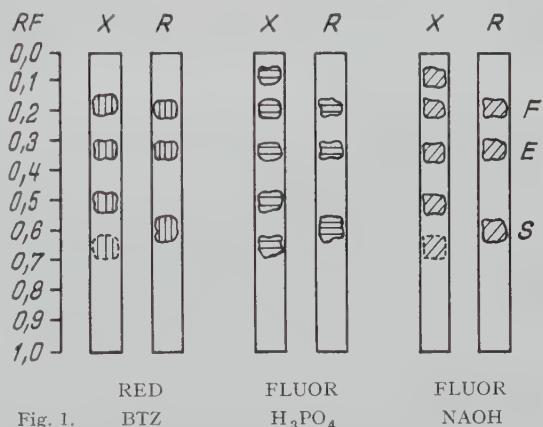


Fig. 1.

Nous retenons également la présence de trois autres fractions sur le chromatogramme. La première, plus polaire que la 17-hydroxycorticostérone, semble être quantitativement très importante. Elle n'est pas réductrice et sa vitesse de migration ainsi que les tests de fluorescence suggèrent qu'il peut s'agir de la substance E de REICHSTEIN ( $\Delta^4$  Pregnene, 3-one, 11, 17, 20, 21 -Tétrole).

**Conclusions.** Le liquide amniotique normal ne contient pas de 17-hydroxycorticostérone, ni de la cortisone.

<sup>1</sup> I. E. BUSH, Biochem. J. 50, 370 (1952).

<sup>2</sup> C. CHEN and H. E. TEWELL, Fed. Proc. 10, 377 (1951).

<sup>3</sup> R. NEHER et A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 34, 2279 (1951).

<sup>4</sup> Mme Ker. 37 ans. 6<sup>e</sup> grossesse. Seul le 2<sup>e</sup> enfant est en vie. Tous pesaient 4 kg et plus. En 1945, 5<sup>e</sup> grossesse: le nouveau-né de 5,1 kg cyanosé, présente probablement une malformation congénitale du cœur, meurt le 11<sup>e</sup> jour. Traitée à l'insuline à partir du 4<sup>e</sup> mois. Accouchement à 8 mois et demi. Nouveau-né présente un aspect «Cushing» et une anomalie congénitale des vertèbres cervicales (KLIPPEL-FEIL).



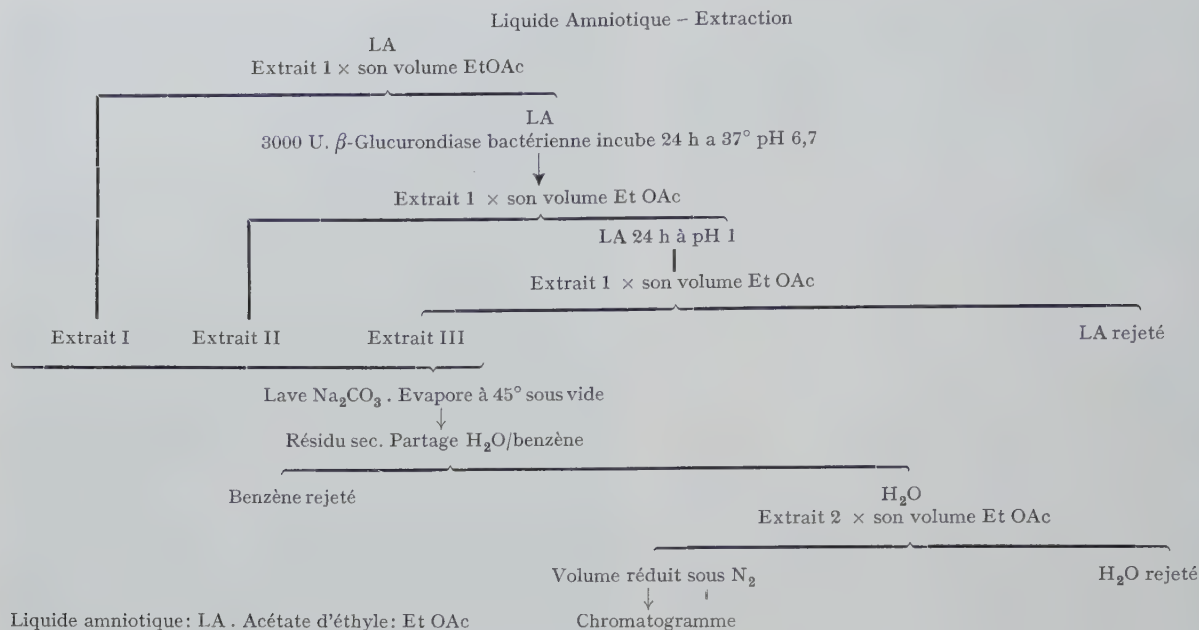


Fig. 2.

Ces substances ont été mis en évidence dans le liquide amniotique d'une femme diabétique dont le nouveau-né présente l'aspect particulier dit «Cushing» et une anomalie congénitale. Leur quantité a été appréciée entre 25 et 50  $\mu\text{g}$  dans le volume de 650 ml de liquide amniotique. Ce liquide contenait un taux anormalement élevé de protéines de 0,7 g %.

Le présent travail a pu être réalisé grâce aux subsides du Fonds national de la Recherche scientifique de Belgique et du Groupement d'études sur la cortisone.

Nous remercions également le professeur J. A. SCHOECKAERT et le Dr M. RENAER, de la Maternité Universitaire de Louvain, qui nous ont procuré les liquides amniotiques.

J. P. HOET et P. A. OSINSKI

Laboratoire de recherches de la clinique médicale,  
Hôpital St-Pierre, Louvain, le 9 juin 1954.

### Summary

Paper chromatography was applied to corticoids extracted from amniotic fluid of a diabetic mother.

Normal amniotic fluid contains no 17-hydroxycorticosterone and cortisone, as defined by paper chromatography.

The extract of amniotic fluid of a diabetic mother, insulin treated from the 4<sup>th</sup> month and giving birth to a child with a congenital anomaly of cervical vertebrae (KLIPPFL-FEIL syndrome) and with typical "Cushing" aspect, has been chromatographed. It contains 25–50  $\mu\text{g}$  of 17-hydroxycorticosterone and cortisone. The protein content of this fluid was 0.7 g %.

### The Diphenylamine Test on Leukemic Sera

According to AYALA and his coworkers<sup>1</sup>, and NIAZI and STATE<sup>2</sup> the intensity of the purple color from the

DISCHE diphenylamine test<sup>1</sup> is greatest with sera from patients with carcinoma, pulmonary tuberculosis, and rheumatic fever.

We found that the diphenylamine (DPA) reagent is extremely useful as an aid in diagnosing leukoproliferative disorders.

Our normal controls were 500 healthy, hospital staff adults, 18 to 50 years of age. Another group of 1,852 patients, 3 to 88 years of age, were selected at random from routine hospital admissions to represent various pathological states. We divided these cases into three groups; 1,670 non-malignant pathological conditions, 104 malignant neoplasms non-leukoproliferative, and 78 leukoproliferative disorders. All diagnoses were made by complete medical and clinical observations. The leukoproliferative group had complete blood counts, including supra-vital stain of peripheral blood and bone-marrow, and autopsy findings, when feasible. Cases with doubtful diagnoses were omitted.

The DPA reagent was made according to DISCHE<sup>3</sup>. Among the slight modifications we made in the analytical procedure of AYALA<sup>3</sup> was the use of only 0.2 ml of serum to permit analysis of samples from infants and small children. The optical density of the clear purple reaction mixture was read from a BECKMAN Model B Spectrophotometer at 530 m $\mu$  with distilled water as the reference solution. The optical density of the solution multiplied by 1,000 gives the DPA index.

The DPA index for 500 normal controls ranged from 180 to 350 units, with a mean value of 248 units, and a probable error of 5.35 units.

The 1,670 non-malignant pathological cases, 15 to 65 years of age, consisted of pregnancies, cardiacs, infectious mononucleosis, hepatobiliary diseases, benign tumors, poliomyelitis, nephrosis and uremia, gastric ulcers, burns, anemias, non-specific infections, collagen diseases, diabetes mellitus, tuberculosis, lupus erythema-

<sup>1</sup> Z. DISCHE, *Mikrochemie* 8, 4 (1930); 7, 33 (1929); *J. Biol. Chem.* 167, 189 (1947).

<sup>2</sup> Z. DISCHE, *Mikrochemie* 8, 4 (1930).

<sup>3</sup> W. AYALA, L. V. MOORE, and E. L. HESS, *J. Clin. Invest.* 30, 781 (1951).

<sup>1</sup> W. AYALA, L. V. MOORE, and E. L. HESS, *J. Clin. Invest.* 30, 781 (1951).

<sup>2</sup> S. NIAZI and D. STATE, *Cancer Research* 8, 653 (1948).



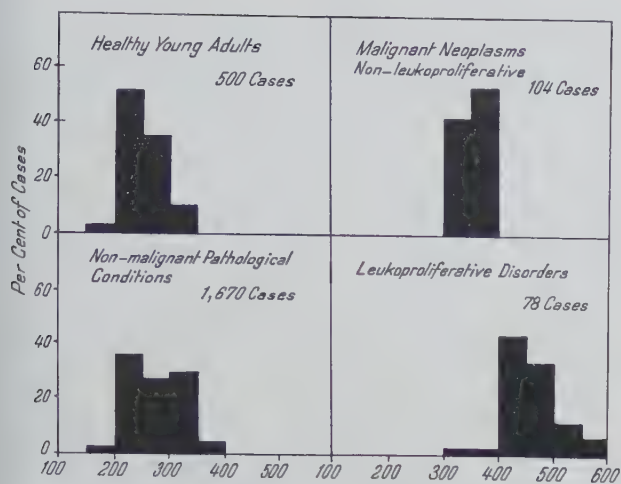


Fig. 1.—Distribution of the DPA indices in four groups of human sera.

tosus, polycythemia vera, and Addison's disease. The DPA index ranged from 160 to 376 units, with a mean value of 274 units, and a probable error of 4.78 units.

The third group was 104 persons, 5 to 88 years of age, with malignant neoplasms, not leukoproliferative, consisting of breast tumor, cancer of the prostate, cancer of the liver, ovarian tumor, skin cancer, brain tumor, osteogenic sarcomatosis, cancer of the esophagus, lung cancer, intestinal cancer, cancer of the tongue, and kidney tumor. The DPA index ranged from 303 to 406 units, with a mean value of 370 units, and a probable error of 5.02 units.

The fourth group, consisting of 78 leukoproliferative conditions or those involving the blood forming organs, 3 to 75 years of age, included acute and chronic leukemia, acute monocytic leukemia, and chronic granulocytic leukemia, reticulum cell sarcoma, lymphosarcoma, lymphoblastoma, multiple myeloma, and Hodgkin's disease. The DPA index ranged from 298 to 600 units, with a mean value of 448 units. The probable error was 5.38 units.

We were fortunate to be able to test several extremely early cases of lymphatic leukemia. These cases gave DPA indices of 298 to 304 units. All other cases of leukoproliferative disorders had a DPA index of 400 units or higher when we first tested them.

The mean values for the normal controls and the non-malignant pathological states differed by 26 units, but the mean value for the malignant neoplasms was 122 units higher than the normal. The mean value of the leukoproliferative disorders was 78 units higher than the malignant neoplasms and 200 units higher than the normals. This difference from malignant neoplasms is sufficiently high to be useful in the diagnoses of leukemia.

The figure shows the distribution of the DPA indices in the four groups of subjects. The highest DPA index values correspond to the leukoproliferative conditions. Multiple myeloma gave especially high values, 520 to 606 units. The index always becomes higher as the leukemia progresses. When drugs such as ACTH, Cortisone, Aminopterin (Lederle), triethylene melamine (Lederle), nitrogen mustards, or X-radiation were given to control the leukoproliferative disorders of patients, the steady increase in the DPA index nevertheless persisted. Even through the disease was in a state of remission or relapse, as revealed by the blood and bone-marrow studies, the DPA index continued to increase and always remained elevated. All other diseases showed a decrease

to the normal index range when the patient was in the recovery stage.

The range, 303 to 406 DPA index units, for malignant neoplasms indicates that the test might also be useful as a screening test for malignancy. Leukemia may be easily distinguished from these processes during the advanced stages when the index is high. Border-line cases will require additional laboratory investigation.

Infectious mononucleosis gave no abnormal rise in the index reading, and therefore, it may be distinguished from leukemia even if the cytologic picture sometimes may be confusing.

Knowledge that the basic abnormality of a leukoproliferative disorder was present would lead to an earlier diagnosis and provide a basis upon which to begin the available therapeutic measures and to study new ones.

Further details of this work will be published elsewhere.

A. L. WALDO and R. E. ZIPF

Department of Research, Diagnostic Laboratories, Miami Valley Hospital, Dayton, Ohio, June 28, 1954.

Zusammenfassung

Alle leukämischen Kranken hatten einen hohen Diphenylamin(DPA)-Index. Falls das mikroskopische Blutbild keine sichere Aufklärung gibt, kann der DPA-Index zur diagnostischen Unterscheidung zwischen Pseudoleukämie und echter Leukämie angewendet werden.

Alkali-Resistant Cooley's Anemia Hemoglobin is Different from Alkali-Resistant Fetal Hemoglobin

An alkali-resistant hemoglobin that has all the properties of normal fetal hemoglobin has been described in COOLEY's anemia<sup>1</sup> and related Mediterranean hemopathic syndromes<sup>2</sup>.

This Hb and the fetal Hb react identically to the denaturation in aqueous alkaline solutions, move the same distance on paper electrophoresis, show the same properties in crystallization, solubility and ultraviolet absorption spectra.

Most authors are therefore inclined to believe that such hemopathic conditions are associated with a congenital inability to pass from fetal to adult mechanism of hemoglobin synthesis.

We all know the importance of the application of several independent methods to check the homogeneity of the protein specimens.

The following differences between fetal and COOLEY's anemia Hb already have been demonstrated in our Institute:

- (1) While their correspondent oxyhemoglobins are known to be denaturated by alkali at the same rate, they are denaturated by acids at different rates<sup>3</sup>;
- (2) their carbon monoxide derivatives are denaturated both by alkali and by acids at different rates<sup>1</sup>.

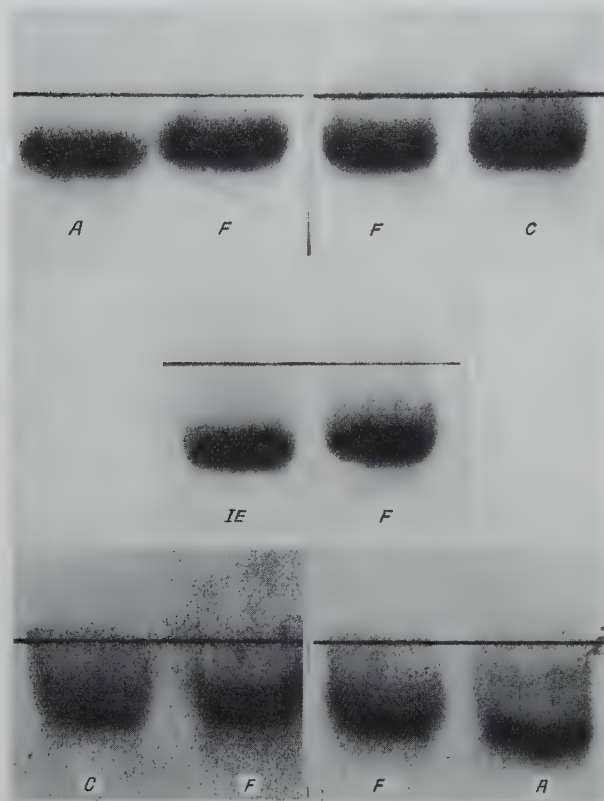
<sup>1</sup> F. VECCHIO, La Pediatria 54, 529 (1946). — T. PUTIGNANO and L. FIORE-DONATI, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 24, 277 (1948). — K. SINGER, A. I. CHERNOFF, and L. SINGER, Blood 6, 429 (1951). — A. M. LIQUORI, Nature 167, 950 (1951). — A. RICH, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 38, 187 (1952). — G. SANSONE and F. CUSMANO, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 26, 1343 (1950).

<sup>2</sup> L. PEROSA, T. PUTIGNANO, and L. FIORE-DONATI, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 25, 1204 (1949). — S. AGNISSETTA and S. MASSENTI, Minerva Med. 2, 661 (1953). — S. CUTILLO, Personal communications.

<sup>3</sup> T. PUTIGNANO and S. COGNETTI, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 28, 1157 (1952).

Now we have been able to show that paper electrophoresis provides evidence of a different behaviour for fetal and COOLEY's anemia Hbs.

After repeated trials, we have used the following technique which is very similar to that described by REYNAUD<sup>1</sup>. The FLYNN and DE MAYO electrophoretic apparatus was used filled up with sodium veronal buffer (pH 9). Two Hb spots were applied on each the 6 cm strips of WHATMAN filter paper n.1, by means of PEROSA's gadget<sup>2</sup>. After 12 h electric current flow (120 W), immediate fixation was accomplished with an alcohol-ether mixture.



Examples of different electrophoresis runs. A = Adult normal Hb; F = Fetal Hb (umbilical cord blood); C = Hb of COOLEY's disease; IE = Congenital hemolytic spherocytic jaundice.

Finally the paper strips were dried at 80°C and the spots evidenced by naphtalene black. The Hb solutions were obtained from patients suffering from COOLEY's anemia, and from the umbilical cord and prepared by a method used also by SPAET<sup>3</sup>.

The results obtained may be summarized as follows:

(1) In agreement with previous observations of REYNAUD, the migration speed of adult Hb is greater than that of the fetal, whereas the migration of COOLEY's anemia Hb has an intermediate rate.

(2) We have also noticed that the pattern of the spots, after evidencing with naphtalene black, was characteristically different for each kind of Hb considered (Figure).

(a) Adult Hb, besides its farther migration from the starting line, appears like a single and well defined band.

(Identical behaviour has shown the Hb in one case of congenital hemolytic spherocytic jaundice.)

(b) Fetal Hb, besides its dislocation nearer to the starting line, shows a darker front band followed by a lighter one with distinct contours: the space between the second spot and starting line is colourless.

(c) The Hb of COOLEY's anemia, besides its intermediate speed between the fetal and adult Hb, shows a front band followed by a lighter one, which unlike fetal Hb, does not show a sharp contour shading to the starting line.

These findings have been reproduced constantly. The pattern of adult Hb therefore substantiates ITANO's statement that the normal adult Hb is a form that occurs free of other components.

COOLEY's anemia and fetal Hbs, on the other hand, are resolved into two bands: the faster possibly corresponding to the adult Hb, the slower corresponding, in one case, to the fetal, and in the other, to COOLEY's Hb. These two bands, as shown above, have different patterns.

These results, which apparently have been obtained also in the DERRIEN's Laboratory<sup>1</sup>, will be further discussed on another occasion.

The electrophoretic behaviour, the different resistance of Hb O<sub>2</sub> to denaturation by acids, and the different resistance of Hb CO to denaturation by alkali and acids, strongly suggest that the COOLEY's and fetal Hbs are different.

L. PEROSA and L. BINI

*Institute of Clinical Medicine, University of Bari,  
March 18, 1954.*

#### Riassunto

Gli autori, basandosi sul fatto che l'Hb alcaliresistente del m. di COOLEY si comporta diversamente dall'Hb alcali-resistente del feto, sia per quanto riguarda la denaturazione dell'Hb O<sub>2</sub> con gli acidi, sia per quanto riguarda la denaturazione dell'Hb CO con gli acidi e con gli alcali, e sia, infine, per quanto riguarda il loro comportamento elettroforetico (su carta), prospettano la possibilità che le due Hb alcali-resistenti siano diverse una dall'altra.

<sup>1</sup> Y. DERRIEN, Personal communication.

#### *In vitro* Inhibition of Catalase by Ovomuroid

HARGREAVES and DEUTSCH<sup>1</sup> have discovered that the kochsaft of tumors is endowed with anticatalase activity.

We have found that hen's ovomucoid acquires, after boiling, a strong inhibitory power against catalase. The ovomucoid was prepared as follows: the egg white diluted 1:1 with saline was placed in a boiling water-bath for 15 min in tightly stoppered glass tubes. After filtration through paper, the clear filtrate containing the ovomucoid was used for the assays. In our experiments, 1 ml of filtrate was incubated for 1 h at 0°C with 0.5 ml of 0.02 per cent horse liver catalase (prepared according to BONNICHSEN<sup>2</sup>) and the catalase activity was then determined spectrophotometrically<sup>3</sup>.

The anticatalase activity of ovomucoid has been found to be proportional to the time of boiling (Fig. 1a),

<sup>1</sup> J. REYNAUD, C. r. Soc. Biol. 147, 838 (1953).

<sup>2</sup> L. PEROSA and G. RACCUGLIA, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 27, 1590 (1951).

<sup>3</sup> T. H. SPAET, J. Lab. Clin. Med. 41, 161 (1953).

<sup>1</sup> A. B. HARGREAVES and H. F. DEUTSCH, Cancer Res. 12, 720 (1952).

<sup>2</sup> R. K. BONNICHSEN, Acta Chem. Scand. 2, 561 (1948).

<sup>3</sup> F. ABRIGNANI and V. MUTOLO, Boll. Soc. ital. Patol. 3, 96 (1953).



to the time of contact between catalase and filtrate (Fig. 1*b*) and to the amount of filtrate used (Fig. 1*c*). A spontaneous decline of the inhibitory power of the preparation was observed after 24 h standing in the cold (Fig. 1*d*). The activity, however, was restored when the ovomucoid was re-boiled.

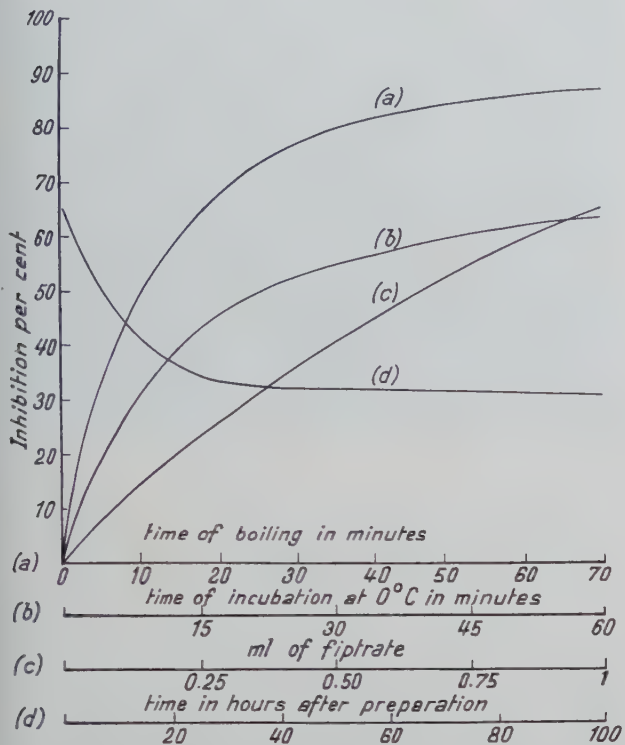


Fig. 1.—Anticatalase activity of ovomucoid. Effect of the time of boiling *a*, of the time of incubation *b*, of amount of filtrate *c* on inhibitory power; spontaneous decline of the inhibitory power *d*.

Furthermore lyophilized or ethanol-precipitated ovomucoid, when dissolved in distilled water, proved to be inactive. Again, activity was restored by boiling. The same loss of activity occurred as a result of a 48 h dialysis of ovomucoid against distilled water at the room temperature. Boiling of the dialyzed ovomucoid after addition of any one of the following salts: KCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, NaCl(0.065 *M*) restored the activity. The sulphates of the same cations were ineffective in bringing about the activity.

From the above it appears that ovomucoid can acquire by means of boiling a new molecular configuration which seems to be responsible for its anticatalase activity. Denaturing agents other than boiling thus far assayed (X-rays, UV-rays, urea) have proven to be ineffective in causing anticatalase activity of ovomucoid to appear.

The new configuration appears to be unstable as it can easily and spontaneously revert to the apparently

more stable, inactive one. On the other hand, boiling of ovomucoid causes a loss of its anti-tryptic power.

Furthermore we have found that both trypsin and chymotrypsin attack the “active” ovomucoid much more readily than the “inactive”. This suggests that the “activation” of ovomucoid may be considered as a process of reversible denaturation.

These observations raise the question whether the anticatalase activity of kochsaft of tumors may not be due to a glycoprotein.

We are indebted to Prof. A. MONROY, Institute of Comparative Anatomy, Palermo, for advice and suggestions.

F. ABRIGNANI and V. MUTOLO

Biological Department, Centro Tumori, Palermo, May 11, 1954.

Riassunto

L'ovomucoide acquista spiccata attività anticatalasica dopo ebollizione. L'ovomucoide attivo dopo liofilizzazione o precipitazione alcoolica diviene inattivo; l'attività viene ripristinata con nuova ebollizione. L'ovomucoide attivo anche dopo dialisi perde l'attività che viene riacquistata con l'aggiunta di sali e successiva ebollizione. L'attività anticatalasica è dovuta ad una nuova configurazione instabile dell'ovomucoide.

Observations on the Metabolism of Endogenous 5-Hydroxytryptamine (Enteramine) in the Rat

The organism of the rat contains about 125 µg of 5-hydroxytryptamine(5-HT) per kilogram of body weight, in terms of free base: 34 µg are present in the blood, 11 µg in the spleen and 80 µg in the gastrointestinal mucosa<sup>1</sup>.

In normal rat urine an indole compound was found which is chromatographically indistinguishable from 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA).

The following solvents and developing agents were used:

(a) solvents: n-butanol saturated with N HCl; n-butanol-acetic acid-water mixture (4:1:5); n-butanol-monomethylamine 25–30 % (8:3); amylalcohol-pyridine-water (2:2:1).

(b) developing agents: 2% alcohol solution of p-dimethylaminobenzaldehyde + HCl vapours; HEINRICH and SCHULER's N.N.C.D. reagent in 0.1 NHCl; diazotized p-nitroaniline + ammonia vapours<sup>2</sup>.

From 155 adult rats weighing 26.5 kg, 775 ml of urine were collected in a 12 h period, i.e. about 59 ml/kg/24 h. At the semiquantitative estimation the urine showed a 5-HIAA content of approximately 1.34 µg per milliliter, viz. of 81.4 µg/kg/24 h or 3.4 µg/kg/h.

It is highly probable that urinary 5-HIAA originates from the oxidative deamination of 5-HT. This signifies that 3.1 µg/kg of endogenous 5-HT are excreted every hour as 5-HIAA (1 mg 5-HIAA = 0.92 mg 5-HT).

On the basis of researches on the fate of exogenous 5-HT administered by parenteral route, we may suppose that only one third of endogenous 5-HT can be recovered from urine as 5-HIAA. The remaining two thirds seem to undergo more profound breakdown processes, possibly involving the rupture of the indole ring<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> V. ERSFAMER, Rend. sci. Farmitalia 1, 1 (1954); Ciba Found. Symposium on Hypertension, Churchill, London 1954, p. 78; Pharmacol. Rev. (in Press).

<sup>2</sup> V. ERSFAMER and G. BORETTI, Arch. int. Pharmacodyn. 88, 296 (1950).

<sup>3</sup> V. ERSFAMER, forthcoming publication.

|                        | mg N/ml in the supernatant after 1 h digestion at 35°C of |                      |
|------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------|
|                        | “active” ovomucoid                                        | “inactive” ovomucoid |
| Trypsin . . . . .      | 0.53                                                      | 0.12                 |
| Chymotrypsin . . . . . | 0.34                                                      | 0.25                 |

We can therefore conclude that about 9–9.5  $\mu\text{g}$  of 5-HT are destroyed every hour per kilogram of body weight (= 216–236  $\mu\text{g}/\text{kg}/24\text{ h}$ ).

The above quantitative data may be taken as a basis for some considerations.

(1) The metabolism of endogenous 5-HT is very intense: blood 5-HT could be renewed every  $3\frac{1}{2}$  h, intestine 5-HT every 8–9 h, and the total 5-HT of the organism every 12–14 h.

This metabolic rhythm rules out the possibility of platelet 5-HT, i.e. virtually of blood 5-HT, being synthesized and incorporated by the platelets at the site of their formation<sup>1</sup>, since the life span of the rat platelets is reported to be approximately 3 to 4 days<sup>2</sup>. No evidence exists in favour of a synthesis of 5-HT in the mature circulating platelets<sup>3</sup>, which, on the contrary, seem to be capable of absorbing 5-HT from plasma<sup>4</sup>.

The quantitative data now available on the metabolism of endogenous 5-HT strongly support our opinion that the site of formation of 5-HT in the organism is the enterochromaffin cell system.

(2) The writer and his collaborators<sup>5</sup> have shown that in hydrated rats the minimum antidiuretic dose of 5-HT is as small as 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , by subcutaneous route.

The failure by CORCORAN *et al.*<sup>6</sup> to confirm these results must presumably be ascribed to inadequacy in their experimental procedure and to the insufficient number of experimental animals they have used.

If we keep in mind that in the rat organism 9–9.5  $\mu\text{g}$  of endogenous 5-HT are inactivated every hour, and that inactivation requires of necessity the presence of free substance in the plasma, we must conclude that the antidiuretic action of 5-HT complies with all the necessary conditions to consider it as the "physiological" action of the substance.

Rat serum contains an antidiuretic factor of non-pituitary origin, called "stable antidiuretic substance"<sup>7</sup>. This factor has been recently identified as 5-HT<sup>8</sup>.

It is enough to inject subcutaneously 1 ml of serum per 100 g of rat to reduce significantly the urine flow. But again the amount of 5-HT present in this milliliter is not greater (1.05  $\mu\text{g}$ ) than that which is released every hour into the circulating plasma by the enterochromaffin cells.

No biological action, besides the antidiuretic one, has been so far obtained with "physiological" doses of 5-HT, i.e. with substance doses of the order of those which occur and are metabolized in the organism.

From all the above it seems to us that evidence is growing in favour of the hypothesis which considers 5-HT as a hormone regulating the function of the kidney, presumably through an interference in the control of intrarenal hemodynamics.

(3) We believe that quantitative estimation of urinary 5-HIAA will become in the near future the method of preference for investigating the rate of 5-HT metabolism under normal and pathological conditions.

It is hoped that the results of these studies will substantially contribute to a more complete understanding of the biological meaning of 5-HT.

V. ERSPAMER

*Institute of Pharmacology, University of Bari, Italy,  
June 5, 1954.*

### Zusammenfassung

Der Rattenurin enthält 1,34  $\mu\text{g}$  5-Hydroxyindolyl-essigsäure je Kubikzentimeter (= 81,4  $\mu\text{g}/\text{kg}/24\text{ h}$ ). Daraus ist zu berechnen, dass in der Ratte täglich 216–236  $\mu\text{g}/\text{kg}$  5-Hydroxytryptamin metabolisiert werden. Dies bedeutet, dass das Blutplättchen-5-HT alle 3–4 h und das Gesamt-5-HT des Organismus alle 12–14 h erneuert werden wird.

Die erhaltenen quantitativen Daten sind hauptsächlich im Hinblick auf die fragliche Bildungsstelle des 5-HT und die biologische Bedeutung der Substanz selber wichtig.

### Zur Wirkung von Narkotin auf den Hustenreflex und auf die Bronchialmuskulatur

Auf der Suche nach Hustenmitteln, die frei von zentralen Nebenwirkungen (Euphorie, Suchtgefahr) sein sollten, prüften wir u.a. auch Narkotin. Dieses in beträchtlicher Menge im Opium vorkommende Alkaloid enthält im Gegensatz zu Morphin und Codein einen Isochinolinring ähnlich wie Papaverin. Soweit ältere Untersuchungen über Narkotin vorliegen, erweisen sie eine kurzdauernde Erregung der Atmung hinsichtlich Frequenz und Volumen<sup>1</sup> sowie eine Erschlaffung glatter Muskelfasern, zum Beispiel des Darms<sup>2</sup>. Jedenfalls fehlt nach den vorliegenden Angaben dem Narkotin eine nennenswerte analgetische oder narkotische Wirkung, woraus hervorgeht, dass der Name den Wirkungstypus keineswegs trifft. Narkotin hat therapeutisch bis jetzt keine Bedeutung erlangt.

Die Auslösung von Husten erfolgte an den mit Numal-Roche (45–55 mg/kg i.p.) narkotisierten Katzen durch mechanische Reizung der Schleimhaut der Luftröhre. Zu diesem Zweck führten wir in Intervallen von 2 bis 5 min. eine Hühnerfeder durch einen kleinen Einschnitt in der Luftröhre bis zur Teilung in die beiden Hauptbronchien ein. Die Hustenstöße registrierten wir mit einer Marey-Kapsel, die über einen Seitenarm mit einer im Pharynx knapp oberhalb des Kehlkopfes befindlichen Kanüle verbunden war. Als Vergleichssubstanz wählten wir Codein, dessen hustenstillende Wirkung im Experiment und in der Praxis unbestritten ist.

Unsere bisherigen Versuche ergaben das überraschende Ergebnis, dass dem Narkotin eine ausgesprochen hustenstillende Wirkung zukommt. Narkotin verminderte gelegentlich schon in Dosen von 0,1 mg/kg das Ausmass der Hustenstöße. In Dosen von 0,5 und 1,0 mg/kg unterdrückte Narkotin meistens den Hustenreflex (s. Abb. 1).

Narkotin erwies sich in unseren Versuchen mindestens so stark hustenstillend wirksam wie Codein, das den

<sup>1</sup> E. TITUS and S. UDENFRIEND, *Federation Proc.* 13, 411 (1954).

<sup>2</sup> T. T. ODELL jr., F. N. GAMBLE, and J. FURTH, *Federation Proc.* 12, 398 (1953).

<sup>3</sup> M. B. ZUCKER, B. K. FRIEDMAN, and M. M. RAPPORT, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 85, 282 (1954).

<sup>4</sup> J. H. HUMPHREY and C. C. TOH, *J. Physiol.* 124, 300 (1954).

<sup>5</sup> V. ERSPAMER and A. OTTOLENGHI, *Arch. int. Pharmacodyn.* 93, 293 (1953). – V. ERSPAMER and P. CORREALE, *Arch. int. Pharmacodyn.* (in Press).

<sup>6</sup> A. C. CORCORAN, G. M. C. MASSON, F. DEL GRECO, and I. H. PAGE, *Arch. int. Pharmacodyn.* 97, 473 (1954).

<sup>7</sup> S. E. DICKER and M. GINSBURG, *Brit. J. Pharmacol.* 5, 497 (1950). – M. GINSBURG and H. HELLER, *J. Physiol.* 115, 43 P (1950); *J. Endocrin.* 9, 274 (1953). – H. HELLER, *Ciba Found., Coll. Endocrin.* 4, 463 (1952).

<sup>8</sup> V. ERSPAMER and G. SALA, *Brit. J. Pharmacol.* 9, 31 (1954).

<sup>1</sup> R. MEISSNER, *Biochem. Z.* 54, 395 (1913). – K. VAN DONGEN, *Arch. internat. Pharmacodyn.* 64, 494 (1940).

<sup>2</sup> R. MEISSNER, *Biochem. Z.* 54, 395 (1913). – O. HIRZ, *Arch. exp. Pathol. Pharmacol.* 74, 318 (1913).



Hustenreflex in Dosen von 0,1 mg/kg manchmal etwas abschwächte und in Dosen von 1,0 mg/kg häufig unterdrückte. Solche Codeindosen wurden auch von anderen Autoren mit anderen Methoden als hustenmindernd und -hemmend befunden<sup>1</sup>.

könnte infolge seiner spasmolytischen Eigenschaft eher eine Erschlaffung des Darms und nicht, wie gelegentlich Codein, Obstipation bewirken. Vor allem aber sollte Narkotin als Isochinolinderivat gefahrlos im Hinblick auf Suchterzeugung sein.

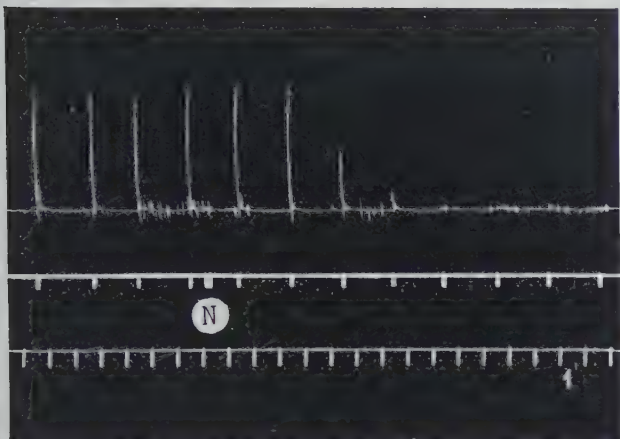


Abb. 1. Hustenstillende Wirkung von Narkotin-Hydrochlorid (0,5 mg/kg i.v. bei N) an der Katze. Hustenauslösung durch mechanische Reizung der Schleimhaut der Trachea jeweils beim Signal.  
Zeitmarken: 1 min.

Im Zusammenhang mit der hustenstillenden Wirkung schien es uns wichtig, Narkotin vergleichend mit Codein auch an der Bronchialmuskulatur zu untersuchen (Methode nach KONZETT-RÖSSLER<sup>2</sup>). Dazu wurden ebenfalls mit Numal-Roche narkotisierte Katzen verwendet. Narkotin in Dosen von 1 bis 3 mg/kg hatte in der Regel keinen eindeutigen Effekt auf die Bronchialmuskulatur; nur gelegentlich kam es zu einer geringfügigen Bronchodilatation (s. Abb. 2). Codein hingegen bewirkte in gleichen Dosen regelmässig eine Bronchokonstriktion (s. Abb. 2).

Im Laufe unserer Versuche erschien eine Veröffentlichung über die hustenstillende Wirkung von Narkotin am Menschen<sup>3</sup>. Dabei wurde an Gesunden und Asthmatikern Husten durch Einatmung von Zitronensäure-Aerosolen willkürlich hervorgerufen. Narkotin erwies sich als stark hustenstillend und dem Codein sogar überlegen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung am Menschen weisen somit in die gleiche Richtung wie unsere Befunde im Tierexperiment<sup>4</sup>.

Narkotin dürfte gegenüber Codein bei gleicher oder sogar stärkerer hustenstillender Wirkung manche Vorteile haben. So fehlt dem Narkotin der bronchokonstriktorische Nebeneffekt des Codeins. Eine Verengung der Atemwege wird aber gerade bei denjenigen Indikationen unerwünscht sein, die Hustenmittel erfordern. Narkotin

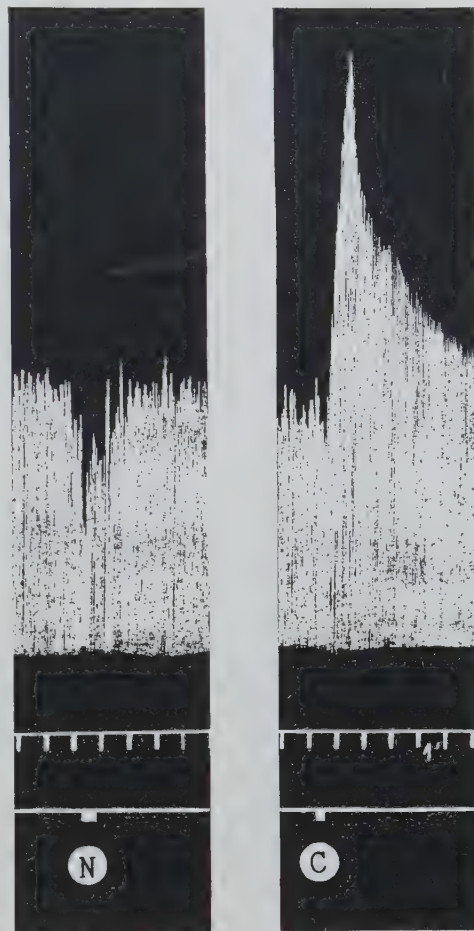


Abb. 2. Bronchodilatation durch Narkotin-Hydrochlorid (2,8 mg/kg bei N), Bronchokonstriktion durch Codein-Phosphat (2,8 mg/kg bei C) an der Katze (Versuchsanordnung nach KONZETT-RÖSSLER).  
Zeitmarken: 1 min.

Der Hauptnachteil des Narkotins ist wohl sein Name, der Eigenschaften vermuten lässt, die ihm nicht zukommen.

H. KONZETT und E. ROTHLIN

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Sandoz AG., Basel, den 12. Oktober 1954.

#### Summary

In experiments on cats cough reflexes were elicited by mechanical stimuli applied to the mucosa of the tracheo-bronchial tree. Narcotine was found to diminish or to depress the cough reflex in doses of 0.1–1.0 mg/kg and was thus about as effective as codeine. On the bronchial muscles narcotine produced no effect or a bronchodilatation whereas codeine produced a bronchoconstrictor effect. As an isochinoline derivative narcotine should not be liable to cause addiction.

<sup>1</sup> R. DOMENJOZ, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 215, 19 (1952). – J. J. TONER und E. MACKO, J. Pharmacol. exp. Therap. 106, 246 (1952). – A. J. MAY und J. G. WIDDICOMBE, Brit. J. Pharmacol. 9, 335 (1954).

<sup>2</sup> H. KONZETT und R. RÖSSLER, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 195, 71 (1940).

<sup>3</sup> H. A. BICKERMAN und A. L. BARACH, Amer. J. Med. Sci. 228, 156 (1954).

<sup>4</sup> Während der Drucklegung dieser Mitteilung wurden wir auf eine im J. Pharmacol. exp. Therap. 112, 99 (1954) erschienene Untersuchung von CH. A. WINTER und L. FLATAKER aufmerksam, die Narkotin an Meerschweinchen und Hunden ungefähr gleich hustenhemmend wirksam fanden wie Codein.

## On the Effects of Xylocain on the Central Nervous System with Special Reference to its Influence on Epileptic Phenomena

The cortical electrical after-discharge and the concomitant epileptiform convulsions which follow upon the cessation of a repetitive cortical stimulation have been used in numerous investigations (for review of the classical literature, see MORUZZI<sup>1</sup>) on "experimental epilepsy"<sup>2</sup>. In several reports of recent years, the characteristics of the cortical after-discharge in relation to varying strengths, durations and frequencies of the stimulations, have been described<sup>3</sup>. In connection with our investigations on the corticospinal system in monkeys<sup>4</sup>, we also recorded the cortical after-discharge; and, in further investigations on monkeys and cats<sup>5</sup>, it was studied under various conditions together with the concomitant ventral root discharges and the changes in spinal reflex excitability. The material offered a basis for a study of the influence of drugs on different central functions with special reference to their effects on the spinal and supraspinal activity during experimental epilepsy. We thereby found that small doses of Xylocain, a well known local anesthetic, evoked characteristic central effects.

When we had established that small intravenous doses of Xylocain blocked the epileptiform cortical after-discharge and the post-stimulatory convulsions, a preliminary investigation was also performed on humans which showed that epileptic fits could be arrested by intravenously injected Xylocain.

The animal experiments were performed on curarized cats in light Nembutal anaesthesia showing a pronounced cortical after-discharge of constant duration. The action potentials were also led off from different nerves and ventral roots during and after the repetitive cortical stimulation and records were made of the mono- and polysynaptic reflexes as well as of the cortical response (area II) to dorsal root stimulation.

Figure 1 A–F shows the corticograms led off at one frontal point (tracing 1) near the stimulating electrode and one parietal point (tracing 2) remote to the stimulating electrode. The input of the third channel of the EEG apparatus was connected to the L<sub>7</sub> ventral root (tracing 3) contralateral to the stimulating cortical electrode. Figure 1A shows the normal electrocorticogram (tracing 1 and 2) before cortical stimulation. The cortex was then stimulated with a train of shocks (frequency 25 per second) during 6 s (records B and C only show the shock artefacts during stimulation). The following picture (D) shows the cortical after-discharge (upper tracings) and the epileptiform outburst in the ventral root (lower tracing) 3 s after the cessation of the repetitive cortical stimulation. Record E illustrates the spontaneous cessation of the after-discharge and ventral root outbursts 11 s after the end of the cortical stimulation, and record F shows the "post-epileptic" exhaustion or "extinction"<sup>6</sup> (15 s after cessation of stimulation)

<sup>1</sup> G. MORUZZI, *Acta Psych. Neurol. Scand.* 27, 317 (1952).

<sup>2</sup> W. PENFIELD and H. JASPER, *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain* (Little, Brown & Co., Boston, 1953), p. 200.

<sup>3</sup> G. MORUZZI, *Arch. int. Physiol.* 49, 33 (1939). – G. NOEL, *Arch. int. Physiol.* 51, 162 (1941). – T. C. ERICKSON, *Arch. Neurol. Psychiat.* Chicago 43, 429 (1940). – A. ROSENBLUTH and W. B. CANNON, *Amer. J. Physiol.* 135, 690 (1942). – A. E. WALKER and H. C. JOHNSON, *Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.* 27, 460 (1948).

<sup>4</sup> C. G. BERNHARD and E. BOHM, *Exper.* (1954), in press.; *Arch. Neurol. Psychiat.*, in course of publication.

<sup>5</sup> C. G. BERNHARD, E. BOHM, and D. TAVERNER, *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* (1954), in course of publication.

<sup>6</sup> J. G. DUSSER DE BARENNE and W. S. McCULLOCH, *Amer. J. Physiol.* 118, 510 (1937); *J. Neurophysiol.* 2, 319 (1939).

which, under the standard conditions used, lasted for about 1 min. During the repetitive cortical stimulation, the action potentials were also led off from other ventral roots or nerves (contralateral to the cortical stimulation) and recorded with fast sweep speed on the screen of a cathode ray oscillograph. Records B<sub>1</sub> and C<sub>1</sub> show superimposed records of the action potentials in *N. radialis* which follow upon each stimulus in the train of repetitive cortical shocks, the artefacts of which are seen in B and C on the continuously running EEG paper. A continuous "tonic" asynchronous discharge is built up during the course of stimulation<sup>3</sup>, as seen in record C<sub>1</sub> taken 6 s after the beginning of the repetitive cortical stimulation (*cf.* the steady base lines in record B<sub>1</sub> obtained 2 s after the beginning of the stimulation). The records also show how each cortical shock is followed by a potential response, the latency of which shortens during the course of the repetitive stimulation<sup>3</sup>.

The records in Figure 2 show the typical effect of an intravenous injection of 2 mg Xylocain per kg (1% solution), which dose was shown to have no effect on the blood pressure. The drug did not change the spontaneous EEG (2 A). The asynchronous "tonic" motoneurone discharge was abolished, and there was no shortening of the latency of the nerve response to each cortical shock (see Fig. 2 B<sub>1</sub> and C<sub>1</sub>). The cortical epileptiform after discharge and the concomitant ventral root outbursts were totally abolished (2 D and E) and the "extinction" was less (2 F) than before the administration of Xylocain (1 F).

In several experiments, the effect was followed for 60–80 min after the injection of varying doses of Xylocain. In Figure 3 the duration of the epileptiform "post-stimulatory" cortical after-discharge is plotted as per cent of the average pre-injection value (vertical axis) against time from the moment of injection (horizontal axis). The values plotted represent average values from 6 experiments in which doses of 1 mg per kg (open circles) and 2 mg Xylocain per kg (filled circles) were tested. The crosses show the duration values of the after-discharge in the untreated preparation throughout one hour. In accordance with the observation on the abolition of the facilitatory ("latencyshortening") effect of the cortical stimulation on the motoneuron response in *N. radialis* to cortical stimulation (Fig. 2 B<sub>1</sub> and C<sub>1</sub>), it was also found that the pronounced facilitation of the monosynaptic reflex, which lasts some seconds after a conditioning repetitive cortical stimulation<sup>3</sup>, was totally abolished by 2 mg Xylocain per kg (for further description of the effect see BERNHARD and BOHM<sup>3</sup>).

In comparison with the pronounced central Xylocain effects described, the influence on the spinal reflexes is relatively weak. The same doses of the drug were tested and the graph in Figure 4 shows the influence of 2 mg Xylocain per kg on the duration of the cortical after-discharge (filled circles), the amplitudes of the monosynaptic (crosses) and polysynaptic L<sub>7</sub> ventral root reflexes (open circles). When there was a complete abolition of the epileptiform phenomena during the first 15 min after the injection, the two types of reflexes were only reduced to 65–75%. The reduction of the reflexes could be followed by a transient increase, and this cyclic effect could also be found in spinal, non-anaesthetised preparations. Finally, the rectangles in Figure 4 give

<sup>1</sup> C. G. BERNHARD and E. BOHM, *Arch. Neurol. Psychiat.*, in course of publication. – C. G. BERNHARD, E. BOHM, and D. TAVERNER, *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* (1954), in course of publication.

<sup>2</sup> C. G. BERNHARD, E. BOHM, I. PETERSÉN, and D. TAVERNER, 1954. In course of publication.

<sup>3</sup> C. G. BERNHARD and E. BOHM, *J. Neuropath. Psychotherap.* (1954). In course of publication.



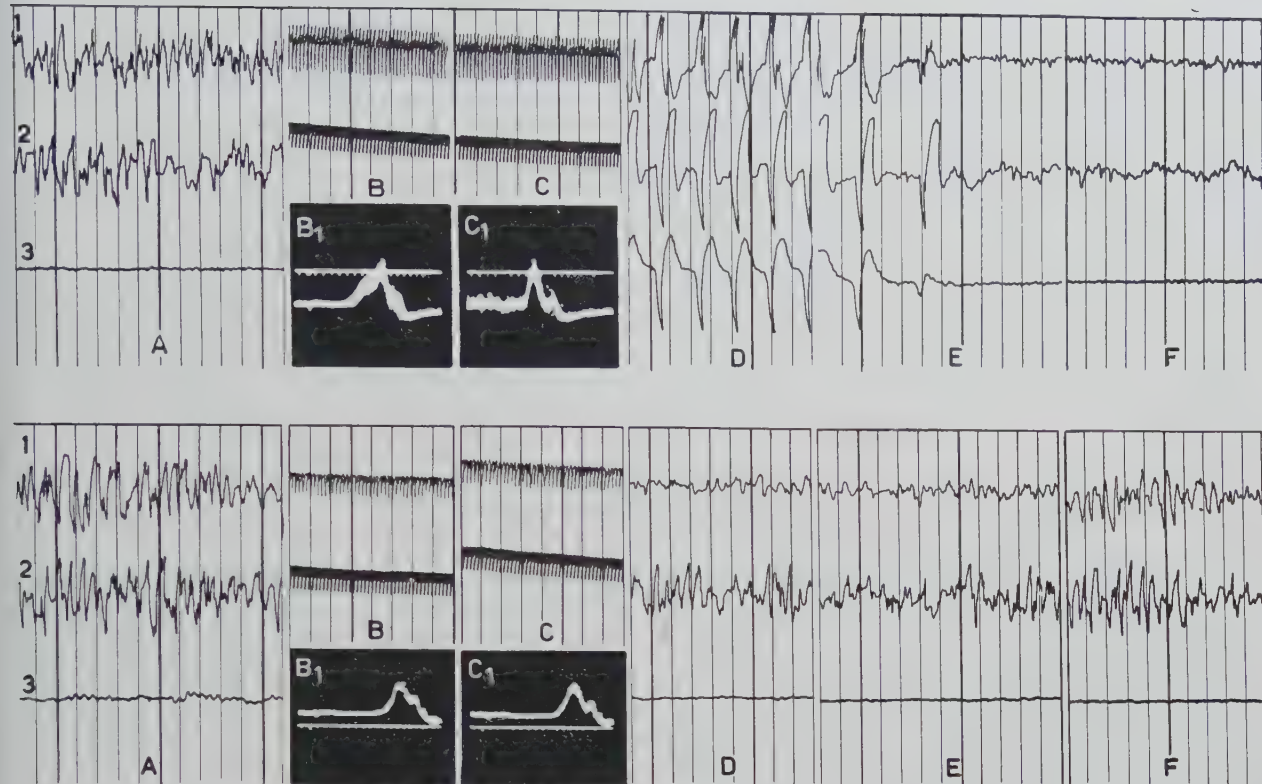


Fig. 1 and 2.—A Comparison of Figure 1 and 2 shows the disappearance of the tonic asynchronous discharge in a peripheral nerve (N. radialis) during cortical stimulation (*B<sub>1</sub>* and *C<sub>1</sub>*) and the abolition of the epileptiform cortical after-discharge and ventral root outbursts after cortical stimulation (*D* and *E*). The records in Figure 1 were obtained before, and those in Figure 2 after intravenous injection of 2 mg Xylocain per kg. Time in *A*–*F* in seconds and  $\frac{1}{5}$  s and in *B<sub>1</sub>* and *C<sub>1</sub>* in ms. For further description see text.

the amplitude values of the surface positive cortical response (area II) to single dorsal root stimulation, which response, as can be seen, was not influenced. It should also be mentioned that in some experiments the effect of Xylocain on the cortical after-discharge was compared with that of nembutal and phenemal. In the few experiments which were hitherto carried out, an intravenous injection of 1 mg per kg of Xylocain was 2–3 times more effective than 3 mg phenemal per kg and 5 mg nembutal per kg.

On the basis of the animal experiments, the effect of Xylocain was tested on 5 patients with different types of epilepsy. In investigations on three cases, 6 sustained epileptic attacks (5 of grand mal type and 1 of Jacksonian type) were arrested by intravenous injection of 0.8–1.2 mg Xylocain per kg in the course of the attack (latency

for effect 20–40 s). In the treated cases with major epileptic fits, the jerks did not decrease successively but suddenly stopped. In one case with pronounced postictal chewing and salivation which regularly occurred after every fit, these phenomena did not occur when the attacks were arrested with Xylocain. In the case of the post-operative Jacksonian epilepsy, following removal of a parietal tumor cyst, the jerks did not disappear after ordinary treatment with barbiturates given intravenously. When the attacks had lasted for three hours, Xylocain was given and the attacks were arrested within

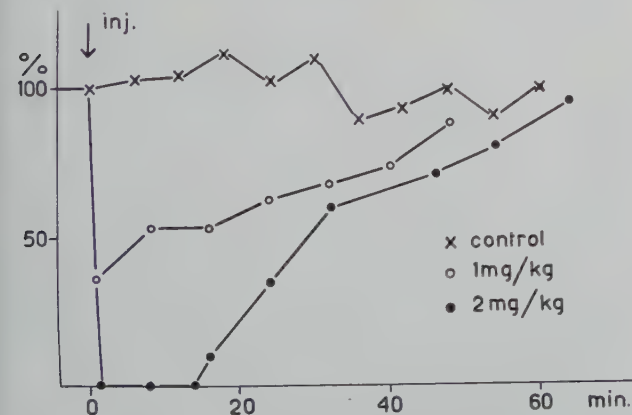


Fig. 3.—Effect of intravenous injection of 1 and 2 mg Xylocain per kg on the duration of the cortical after-discharge (see text).

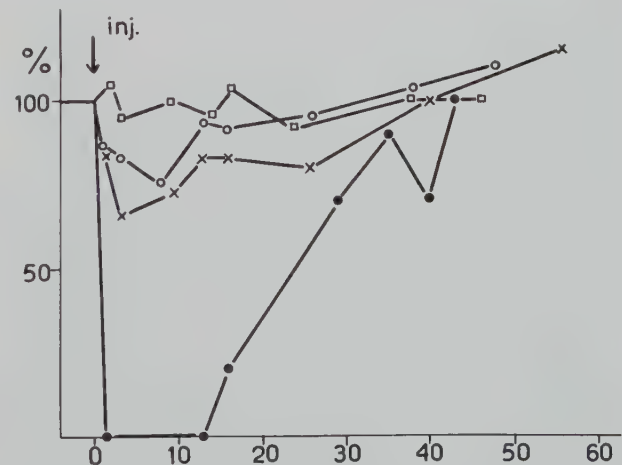


Fig. 4.—Effect of intravenous injection of 2 mg Xylocain per kg on the duration of the cortical after-discharge (filled circles) the amplitude of the mono (crosses) and polysynaptic (open circles) reflexes, and on the amplitude of the surface positive cortical area II response to dorsal root stimulation.

30 s and did not return. One case of *status epilepticus*, following partial removal of the left temporal lobe, did not respond to large doses of barbiturates. However, during the continuous intravenous administration of 0.7 mg Xylocain per kg per hour during 12 h, the attacks successively diminished. After this treatment, the patient could talk which she had not been able to do since the attacks started 3 days after the operation. Finally in one other patient with frequent (4–6 min intervals) fits of short duration (5–20 s), the fits were temporarily abolished. The duration of the Xylocain effect corresponded to the results from the animal experiments.

Further experiments are carried out in order to elucidate the central effects of Xylocain and related compounds; and it should be pointed out that intravenous injections, in connection with convulsions or

other motor disorders, must be made with great care until more is known about the central effects of the drug.

C. G. BERNHARD and E. BOHM

*Physiological Department II, Karolinska Institutet and Neurotraumatological Clinic, Serafimerlasarettet, Stockholm, May 26, 1954.*

#### Zusammenfassung

Es hat sich gezeigt, dass kleine intravenöse Dosen von Xylocain im Versuch an der Katze die zentralen epileptiformen Nachentladungen und die poststimulatorischen Krämpfe blockieren können, und in Analogie hierzu zeigte eine preliminäre Untersuchung am Menschen, dass epileptische Anfälle durch intravenöse Injektionen von Xylocain abgebrochen werden können.

## Informations - Informationen - Informazioni - Notes

### STUDIORUM PROGRESSUS

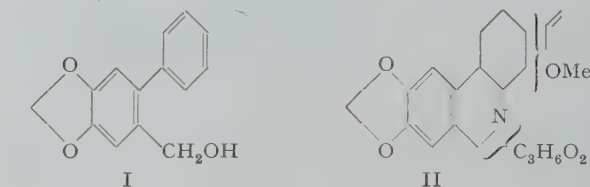
#### The Structure of Tazettine

By E. WENKERT<sup>1</sup>, Ames, Iowa

The chemistry of tazettine, a minor alkaloid of the *Amaryllidaceae*, was investigated first by SPÄTH<sup>2</sup>, who had isolated the natural product from the bulbs of *Narcissus tazetta* L. The compound was found to contain a tertiary nitrogen, a methylenedioxy, a hydroxy, and one methoxy functions. Zinc dust distillation yielded phenanthridine, while permanganate oxidation produced hydrazic and oxalic acids. HOFFMAN degradation led to an oily methine base, with an apparent loss of the methoxy group, which could be oxidized with permanganate to a mixture of benzoic and oxalic acids. A two-stage HOFFMAN degradation, however, yielded a crystalline non-nitrogenous compound which was identical with synthetic 6-phenylpiperonyl alcohol (I). On the basis of mainly these experimental results SPÄTH suggested part structure II for tazettine.

In 1936 a direct comparison of tazettine with KONDO's "base VIII"<sup>3</sup>, one of the minor alkaloids isolated from *Lycoris radiata* Herb.<sup>4</sup>, and with ungernine<sup>5</sup>, obtained by ORECHOFF from the bulbs of *Ungernia Sewertzowii* (Rgl.) FEDSCH<sup>6</sup>, established the identity of the three compounds. ORECHOFF's few experiments<sup>6</sup> supplemented those of SPÄTH. Thus the hydrogenatibility of the alkaloid pointed definitely to the presence of unsaturation in the molecule, while the isolation of compound I both from a single-stage HOFFMAN degradation and from a vigorous base treatment of the alkaloid itself indicated the general lability of the natural product toward alkali.

In a recent series of six papers, KONDO and coworkers described further structure studies on tazettine\*. The



"des-N-bases" was known, formulas III and IV were proposed for compounds A and F respectively\*<sup>c,d</sup>. However the synthesis of the methyl ether IV and its non-identity with the hydrogenation product F disproved the latter formulation\*<sup>d</sup>. Permanganate oxidation of the major "des-N-base" D yielded a mixture of the substituted benzaldehyde V and benzoic acid VI which were identical with synthetic specimens\*<sup>e</sup>. However a consequent structural assignment VII for the "des-N-base" proved to be also incorrect due to its non-identity with the synthetic product\*<sup>f</sup>. Thus while KONDO had previously proposed structure VIII, or its two ketol isomers, for tazettine\*<sup>b,c</sup>, a structure which in reality was inadmissible on the basis of the simplest qualitative data, e.g. negative aldehyde and ketone tests, much of the degradation work appeared to be of little interpretive value.

Most recently a biogenetic scheme encompassing the alkaloids of the *Amaryllidaceae* has been proposed, wherein the possible origin of the basic carbon-nitrogen skeleton of lycorine (IX), the major alkaloid of this family, was presented<sup>1</sup>. An oxidative variation of this biogenesis<sup>2</sup> would lead to structures such as X, requiring a two-carbon side-chain at C-1 of the phenanthridine nucleus, a requirement borne out by the structures of lycorine and lycoramine, two minor alkaloids of this series, but violated by the SPÄTH or KONDO

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Iowa State College, Ames, Iowa, U.S.A.

<sup>2</sup> E. SPÄTH and L. KAHOVEC, Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 1501 (1934).

<sup>3</sup> E. SPÄTH, H. KONDO, and F. KUFFNER, Ber. dtsch. chem. Ges. 69, 1086 (1936).

<sup>4</sup> H. KONDO, K. TOMIMURA, and S. ISHIWATARI, J. pharm. Soc. Japan 52, 51 (1932).

<sup>5</sup> E. SPÄTH, A. ORECHOFF, and F. KUFFNER, Ber. dtsch. chem. Ges. 69, 2446 (1936).

<sup>6</sup> S. NORKINA and A. ORECHOFF, Ber. dtsch. chem. Ges. 69, 500 (1936).

\*<sup>a</sup> H. KONDO and T. IKEDA, J. Pharm. Soc. Japan 65, 9 (1945);

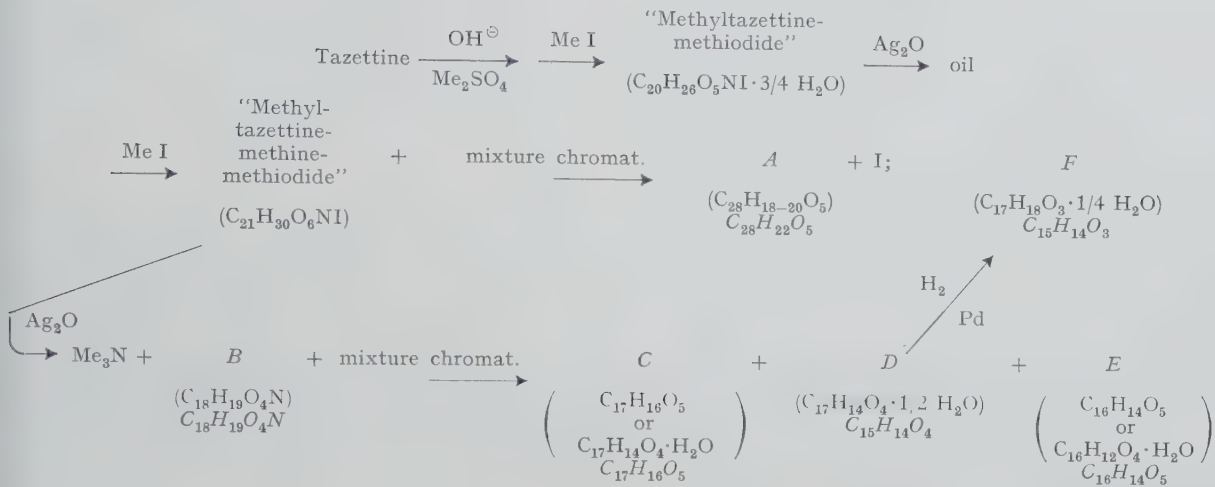
<sup>b</sup> H. KONDO, T. IKEDA, and N. OKUDA, Ann. Reports Itsuo Lab. 1, 21 (1950); <sup>c</sup> H. KONDO and T. IKEDA, ibid. 2, 18 (1951); <sup>d</sup> H. KONDO, T. IKEDA, and K. TAKEDA, ibid. 3, 24 (1951); <sup>e</sup> H. KONDO, T. IKEDA, and J. TAGA, ibid. 3, 30 (1952); <sup>f</sup> H. KONDO, T. IKEDA, and J. TAGA, ibid. 4, 30 (1953).

<sup>1</sup> E. WENKERT, Chem. and Ind. 1953, 1088.

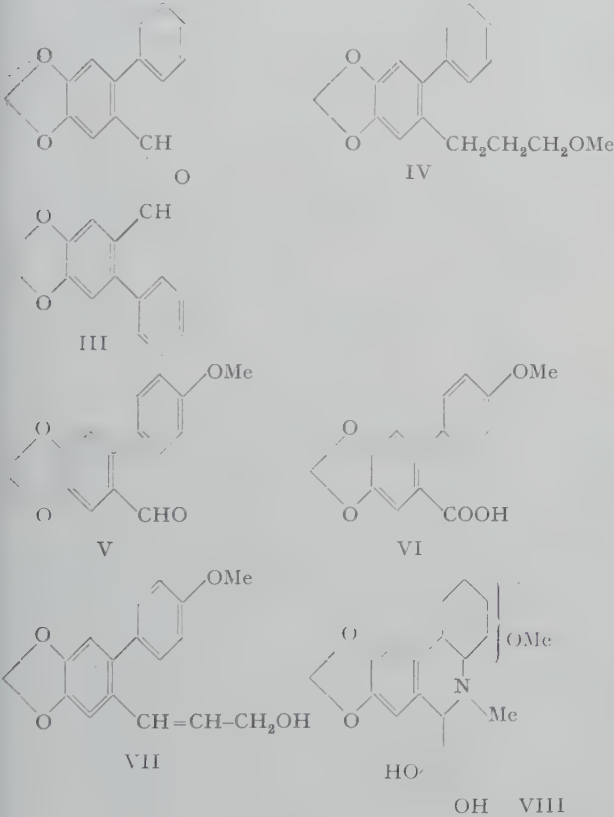
<sup>2</sup> E. WENKERT, Exper. 8, 346 (1954)



Table I

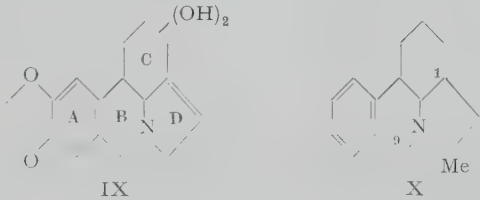


part formulas (II and VIII) of tazettine, whose side-chain appears at C-9. This inconsistency, added to the odd fact that many of KONDO's tazettine degradation products were formulated as fractional hydrates (see the empirical formulas in parentheses in Table I), called for a reevaluation of KONDO's chemical, especially analytical, data.



Recalculation of KONDO's reported analytical values for compound D<sup>\*b</sup>, the major HOFFMAN degradation product, reveals that C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub> is the most acceptable (non-hydrated) empirical formula (see italicized formulas in Table I). The fact that this compound was oxidizable to a mixture of aldehyde V and acid VI and was hydrogenatable to F, whose corrected empirical structure is C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>, with a concomitant loss of an oxygen atom

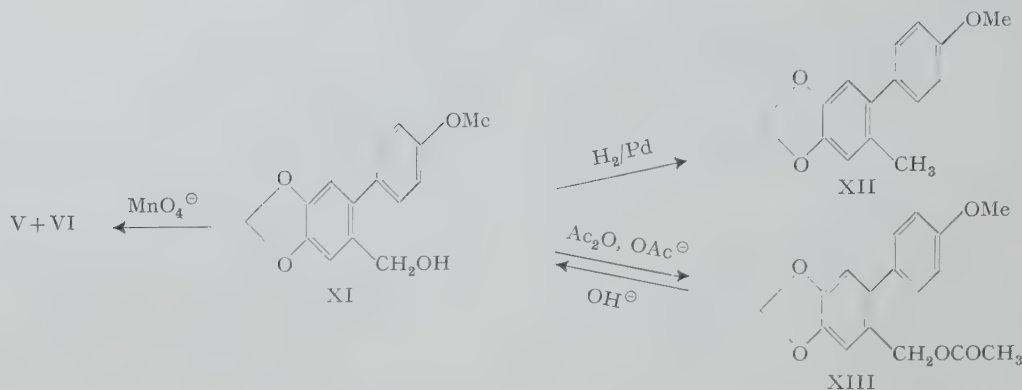
limits its structural formula to the benzyl alcohol XI and consequently that of its hydrogenolysis product F to XII. These formulations are strengthened by the fact the "des-N-base" D, now compound XI, had been reported to be acetylatable to a product which on alkaline hydrolysis reverted to the starting material. Whereas, C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> · 1/2H<sub>2</sub>O was the assigned formula for this acetate, a recalculation showed that C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> fitted the analytical values best and hence established the already-predictable structure XIII for this compound. Coincidentally, the latter also must be the structure of "des-N-base" C since its empirical formula as well as its melting point, 87-89°, agree with those of the acetate (m.p. 89-90°). As a final confirmation for the above arguments it must be mentioned that KONDO's ultra-violet absorption spectra<sup>\*b</sup> for compounds XI, XII, and XIII are essentially superposable as would be expected for an identical diphenyl chromophoric system in all three degradation products.



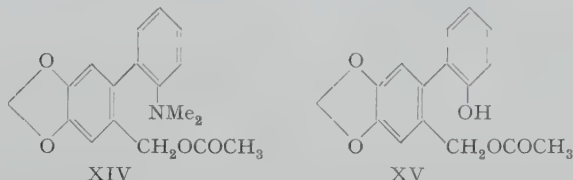
B, the only nitrogenous HOFFMAN product, has been assigned correctly formula C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>O<sub>4</sub>N and has been reported to possess no methoxy group<sup>\*b</sup>. The structure of this compound can be envisaged to be XIV mainly on the basis of it having to possess a dimethylamino group in the position of the methylimino function in the original phenanthridine nucleus. The ultraviolet spectra of B confirms the presence of a diphenyl system although its absorption characteristics are different than those of the above HOFFMAN degradation products and thus in agreement with a shift of chromophores, i.e. p-methoxy to o-dimethylamino. The oxygen atoms, other than those associated with the ever-recurring methylenedioxy linkage, were assigned their function as acetate for reasons that will become obvious below although one immediate reason for considering only this structure is the fact that their only other logical position, i.e. somewhere in the newly created benzene ring, would most likely affect the chromophore of the system more drastically than the spectra would warrant. Compound E, C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>, was

<sup>\*b</sup> See footnote pag. 476.

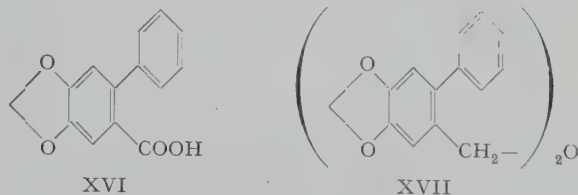
<sup>\*b</sup> See footnote pag. 476.



shown to have identical ultraviolet absorption spectra to *B*. Since it also is lacking a methoxy group and its formula indicates a replacement of a dimethylamino function in *B* by a hydroxyl group, its structure must be XV. It is interesting to note that its polar phenolic hydroxyl group causes it to be the product isolated last (by elution with methanol) in the chromatographic separation of "des-N-bases" *C*, *D*, and *E* (see Table I).

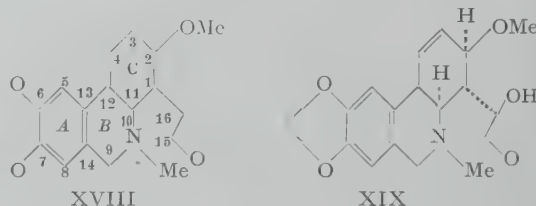


Finally, compound *A*, which was isolated along with 6-phenylpiperonyl alcohol (I) after only a single HOFFMAN treatment, has been reported by KONDO<sup>b,e</sup> to be lacking a methoxy function, to possess a high molecular weight (440) but a low oxygen content and to be oxidizable by permanganate to 6-phenylpiperonylic acid (XVI). This data along with the critically reviewed carbon-and-hydrogen analysis ( $\text{C}_{28}\text{H}_{18-20}\text{O}_5$  formula having had to be changed to  $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_5$ ) makes it possible to assign structure XVII to this compound.

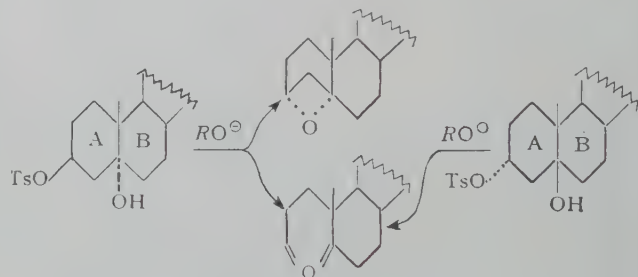


With the elucidation of the constitution of the products of alkaline degradation completed, the structural formulation of tazettine itself may be attempted. If for afore-mentioned biogenetic reasons the alkaloid is assumed to have the basic carbon-nitrogen skeleton in X, the latter can now be expanded to XVIII, to incorporate the constantly recurring 6,7-methylenedioxy group, the often appearing 2-methoxy function and an as yet undefined  $\text{C}_{15}$ -O linkage (to prevent the presence of a C-methyl group). The positions of the still-missing hydroxyl group, double bond and ether linkage, however, are indeterminable unless a reason can be found for the consistent extrusion of the two-carbon side-chain with a simultaneous loss of the methoxy and/or the methylimino groups during alkaline degradation. Part of this phenomenon, i.e. the cleavage of the  $\text{C}_{(1)}\text{-C}_{(16)}$  linkage, is immediately explicable if the prior assumption be made that the  $\text{C}_{(1)}\text{-C}_{(16)}$  bond in tazettine is trans to both

the  $\text{C}_{(11)}\text{-N}$  and  $\text{C}_{(2)}\text{-O}$  bonds and that  $\text{C}_{(16)}$  holds a group (e.g. a hydroxyl group) which in the alkali-induced reactions can function as an internal base for ionic elimination of either the methoxy or methylimino groups.



This condition (as portrayed in formula XIX) has been shown most recently to be responsible for a similar elimination of a 1,3-glycol system in a steroid case<sup>1</sup>:



Because of the participation of carbon atoms 16, 1, 2, and 11 in the above elimination reactions, only positions 3-4 or 4-12 remain for the location of a double bond in ring C. These two sites are distinguishable from each other in as much as the latter places the double bond into conjugation with the aromatic ring A. This is an impossible condition since the ultraviolet absorption spectra of tazettine is identical with that of lycorine (IX)<sup>2</sup>, whose methylenedioxyphenyl group is unconjugated with any other site of unsaturation in the molecule<sup>3</sup>. Hence the double bond in tazettine must be located at  $\text{C}_{(3)}\text{-C}_{(4)}$ . The remaining oxygen atom, already associated with  $\text{C}_{(15)}$  must link this carbon atom with  $\text{C}_{(12)}$  in an ether linkage since cross-bonding with any other center in the molecule again would interfere with sites of the base-catalyzed degradative reactions<sup>4</sup>. Thus the complete structure of the alkaloid is represented in formula XX:

<sup>1</sup> R. B. CLAYTON and H. B. HENBEST, Chem. a. Ind. 1953, 1315.

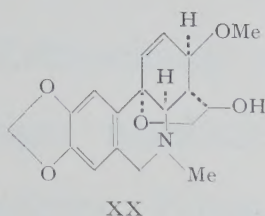
<sup>2</sup> H. KONDO, T. IKEDA, and N. OKUDA, Ann. Reports Itsuu Lab. 1, 21 (1950). - H. KONDO and H. KATSURA, Ber. dtsch. chem. Ges. 73, 1424 (1940).

<sup>3</sup> R. B. KELLY, W. I. TAYLOR, and K. WIESNER, J. Chem. Soc. 1953, 2094.

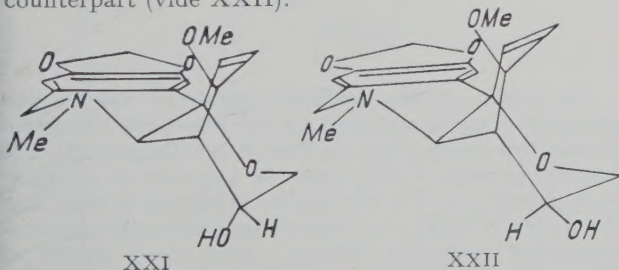
<sup>4</sup> The presence of ether linkages in tazettine had been indicated already by CLEMO through the infrared spectrum of the alkaloid (G. R. CLEMO and D. G. I. FELTON, Chem. a. Ind. 1952, 801).

\*b,e See footnote pag. 476.





The cited experimental data on tazettine permits even the exact steric assignment of the  $C_{16}$  hydroxyl group. Both SPÄTH's and ORECHOFF's HOFFMAN degradation procedures (carried out by refluxing crystalline tazettine methiodide with a silver oxide suspension) yielded demethoxylated products only, -indicative of the fact that in the primary elimination reaction (see path A in Diagram I) the hydroxyl group must have been oriented in such a direction as to be coplanar with carbon atoms 16, 1, 2 and the methoxyl group. An inspection of a model of tazettine indicates that such five-center coplanarity is achieved only if the hydroxyl function exists in an axial conformation in its pyran ring. KONDO's degradative experiments yielded both demethoxylated and methoxy-containing compounds, as his HOFFMAN reaction was preceded by a mild alkaline "methylation" reaction. The last process would be expected to establish an equilibrium between the axial hydroxyl group and its more stable equatorial isomer which after methiodide formation can be envisaged to undergo HOFFMAN elimination by a break-up of the five-center coplanar betaine (see path B in Diagram I), involving the equatorial hydroxyl group, carbon atoms 16, 1, 11 and the dimethylammonium group<sup>1</sup>. These mechanistic arguments would suggest that tazettine possesses an axial hydroxyl function (vide XXI) which in KONDO's experiments is isomerized to a great extent to its equatorial counterpart (vide XXII).



<sup>1</sup> KONDO's "methyltazettine methiodide" (see Table I) thus must be either a mixture of the methiodides of tazettine and isotazettine

The above elimination reactions, which are the obvious primary steps in the alkaline decomposition of tazettine, now make it possible to correlate the multitude of HOFFMAN degradation products with the structure of the alkaloid. Thus an elimination via *Path A* (vide supra) with a consequent loss of the methoxy group<sup>2</sup> leads to the dihydroaromatic compound XXIII which is unable to aromatize by a concerted elimination of glycolaldehyde because of the cis relationship of the two vicinal groups involved. Hence the aromatization of ring C must proceed by other routes of which there are three theoretically possible all of which lead to different degradation products. Firstly, the coplanar trans relationship of the axial glycolaldehyde sidechain and of the axial dimethylammonium group in the intermediate XXIII suggest a disproportionation of its alkali-produced betaine (XXIV) via another five-center coplanar transition state into glyoxal and the aromatic nucleus and dimethylamino grouping of compound XXV. Secondly, the elimination of glycolaldehyde from XXIII is possible if the reaction is envisaged to occur stepwise, with formation of a discreet carbanion, i.e. the well-stabilized ylid XXVI, prior to extrusion of the aldehyde. Such elimination would produce the phenanthridinium ion XXVII<sup>3</sup>. Finally, the doubly allylic ammonium ion

or exclusively the latter. Whereas it is impossible to ascertain the correct empirical formula for this "compound", because of insufficient analytical data in this case as well as in the case of all of KONDO's nitrogen- or iodine-containing degradation products (except compound XIV), the C-and-H data alone agree well with  $C_{19}H_{24}O_5NI$  for isotazettine methiodide. The inability of tazettine or its isomer to undergo O-methylation is in consonance with the reported similar lack of reactivity of the hydroxyl groups of lycoramine, another amaryllidaceous alkaloid [H. KONDO and S. ISHIWATA, Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 2427 (1937)].

<sup>2</sup> While base-catalyzed  $E_2$ -type elimination reactions of ethers are rare and high-energy processes mainly because of the poor nature of the alkoxide ion as a leaving group, the energy of the transition state in the above case is lowered greatly because of the coplanarity of all atoms involved and because of the stabilization of the incipient double bond in the transition state by  $\pi$ -bond overlap with the adjacent  $\Delta^{3-4}$  linkage.

<sup>3</sup> The formation of the phenanthridinium ion could also be visualized to occur via the production of ylid XXX, extrusion of

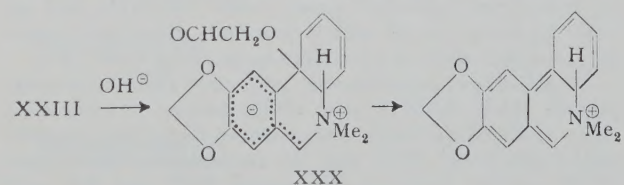
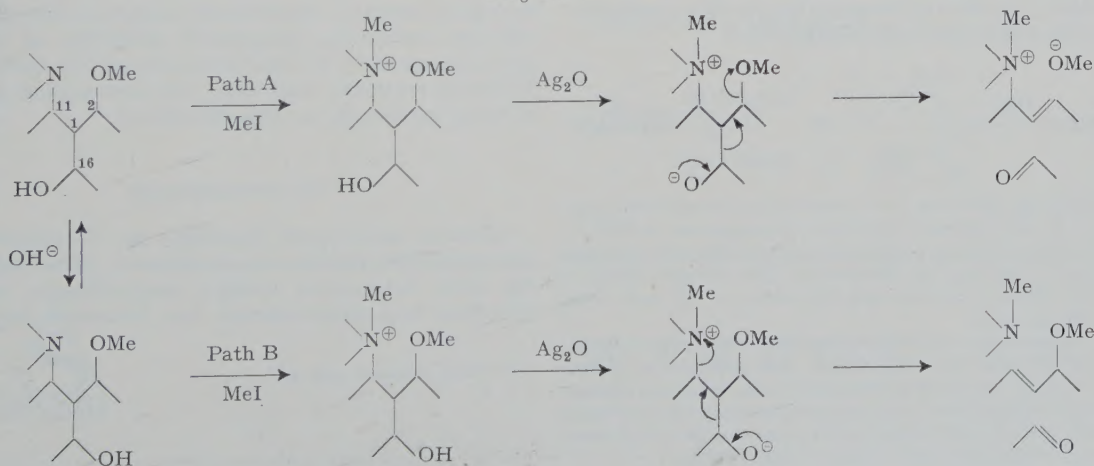
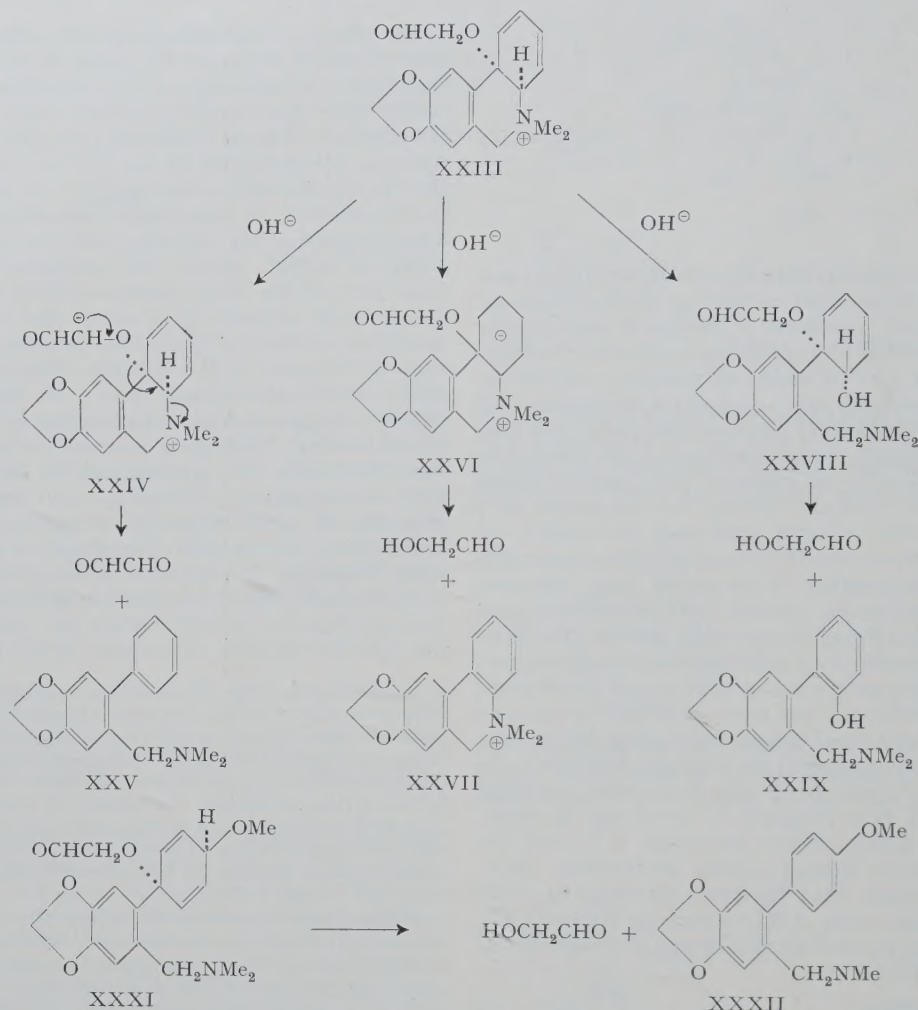


Diagram I

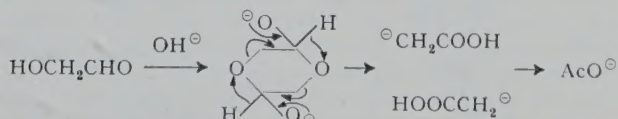






XXIII would be expected to be easily susceptible to hydroxide ion displacement, causing the formation of an equatorial hydroxyl group (vide XXVIII) and an axial hydrogen atom which permit a subsequent concerted elimination of glycolaldehyde.

Displacement reactions by pertinent anions on compounds XXV, XXVII, and XXIX and/or their methiodides yield KONDO's demethoxylated degradation products I and XVII, XIV, and XV respectively. The origin of the acetate group in compounds XIV and XV, and hence the presence of acetate ion in the HOFFMAN reaction medium, can be explained to be due to a rearrangement of the sideproduct glycolaldehyde<sup>1</sup>:



the glycolaldehyde sidechain (or a combination of these two steps in a concerted reaction) and prototropic rearrangement to XXVII. This alternative mechanism would overcome the difficulty in having to formulate a two-step cis elimination. (The author wishes to heartily acknowledge an interesting discussion on this point with Dr. M. F. HAWTHORNE.)

<sup>1</sup> This transformation is in essence a benzylic-acid-type rearrangement but is pictured above to include two molecules of glycolaldehyde because of the known tendency of latter to exist in solution and to react in dimeric form; e.g. the pyridine-catalyzed acetylation of the aldehyde produces 2,5-diacetoxy-1,4-dioxane [H. O. L. FISHER and C. TAUBE, Ber. dtsch. chem. Ges. 60, 1704 (1927)].

The origin of the methoxy-containing degradation products must be ascribed to the elimination reaction of tazettine methiodide via *Path B* (see Diagram I). The primary product XXXI would be expected to be transformed easily by 1,4-elimination of glycolaldehyde into the amine XXXII, the obvious precursor (through displacement reactions identical with those above) of KONDO's products XI and XIII.

Whereas a correlation of other reported conversion products of tazettine, mainly acetylation products<sup>\*c,e</sup>, with the here-presented structure of the alkaloid would be highly desirable, insufficient analytical data for these nitrogen-containing compounds prohibits an unambiguous assignment of their structures at this time. Meanwhile the synthesis of all above non-nitrogenous products is being carried out in this laboratory.

#### Zusammenfassung

KONDO's analytische Resultate der Tazettindeggradationsprodukte wurden neu bestimmt, Strukturformeln für diese Substanzen werden vorgeschlagen und die Struktur und Stereochemie des Alkaloids dargestellt.

<sup>\*c,e</sup> See footnote pag. 476.



Die Erforschung der Wirkstoffe des Mutterkorns beschäftigte namhafte Chemiker und Apotheker während Jahrzehnten. Einen ersten Markstein bedeutete die Entdeckung und Reindarstellung des Alkaloids Ergotamin in den Laboratorien der Sandoz A.G., wo in der Folge auch die Auffindung und Herstellung weiterer für die Medizin äusserst wertvoller Mutterkorn-Reinalkaloide gelang. Neue therapeutische Aspekte eröffnete die erstmals bei Sandoz erfolgte Hydrierung dieser Stoffe. Folgende Präparate sind das Ergebnis dieser Forschungen:

Cafergot

Dihydroergotamin-Sandoz

Gynergen

Hydergin

Methergin

Neo-Gynergen

Partergin



S A N D O Z    A . G.

---

EXPERIENTIA SUPPLEMENTUM I

# **Gegenwartsprobleme der Ernährungsforschung**

## **Present Problems in Nutrition Research**

### **Les problèmes actuels de la nutrition**

SYMPOSIUM BASEL, 1.-4. X. 1952

Unter dem Patronat der Internationalen Union der Ernährungswissenschaften – Under the auspices of the International Union of Nutrition Sciences – Sous le patronage de l'Union internationale des sciences de la nutrition – Direction: F. Verzář – Organisation: Experientia

*Beiträge:* E. ABRAMSON, W. R. AYKROYD, K. BERNHARD, A. B. L. BEZNÁK, E. J. BIGWOOD, H. D. CREMER, D. P. CUTHBERTSON, H. DAM, V. DEMOLE, S. J. FOLLEY, L. J. HARRIS, O. HÖGL, K. LANG, K. THOMAS, J. TRÉMOLIÈRES, A. G. VAN VEEN, A. I. VIRTANEN, H. KRAUT, J. KÜHNAU, S. MARKEES, T. H. MOORE, A. SCHÜRCH, J. C. SOMOGYI, F. TERROINE etc.

Ganzleinenband - Full cloth - Relié en toile - (1953) - 312 Seiten. Fr. 32.— (DM 32.—)

VERLAG BIRKHÄUSER · BASEL/STUTTGART

## **Helvetica Physiologica et Pharmacologica Acta**

Seit 1943 offizielles Publikationsorgan des Schweiz. Vereins der Physiologen und Pharmakologen

*Fasc. 2, 1954, enthält folgende Arbeiten:*

W. H. MINDER und I. ABELIN: Gesamtlipid- und Plasmalogengehalt des Gehirns bei der experimentellen Hyperthyreose. P. SCRIBANTE et P. FAVARGER: Etude de la digestibilité de l'acide stéarique et de ses esters glycériques chez le rat. L. DETTLI, D. VON CAPELLER und K. BUCHER: Die Verwendung von Rindererythrocytensuspensionen für Kreislaufexperimente an der Katze. A. MÜLLER: Über die Verwendung des Pitot-Rohres zur Geschwindigkeitsmessung. A. BETTICHER, J. MAILLARD et A. MÜLLER: Un manomètre différentiel à transmission électrique entièrement alimenté sur le réseau alternatif, pour mesurer la vitesse d'écoulement dans des tuyaux et des vaisseaux sanguins. H. PETSCHKE und M. MONNIER: Die elektrische Aktivität der Hirnrinde und des Zwischenhirns bei Reizung von Cortex, Rhinencephalon und Diencephalon. B. MÜLLER: Zum Mechanismus des Hustens. Verhandlungen des Schweizerischen Vereins der Physiologen und Pharmakologen, 44. Tagung vom 22./23. Mai 1954.

*Preis des Jahresabonnements:*

Fr. 40.—, zuzüglich Porto. Vorzugspreis für wissenschaftliche Institute Fr. 33.50, zuzüglich Porto.

Abonnemente nimmt Ihr Buchhändler entgegen oder der

VERLAG BENNO SCHWABE & CO., BASEL 10